

UNIVERSIDAD NACIONAL MAYOR DE SAN MARCOS

FACULTAD DE MEDICINA VETERINARIA

E.A.P. DE MEDICINA VETERINARIA

**Frecuencia de leptospira sp. en porcinos de crianza
tecnificada y no tecnificada del valle de Lima
beneficiados en dos mataderos de la ciudad de Lima**

TESIS

para optar el Título Profesional de Médico Veterinario

AUTOR:

Luis Alberto Anampa Vega

Lima – Perú

2010

Dedicado a:

A mis padres, Bonifacio y Rebeca por su esfuerzo, sacrificio y entrega.

A mis hermanos: Isabel, Nora, Enrique y Betty por sus constantes consejos e infinito apoyo.

Agradecimientos:

A la Dra. Hermelinda Rivera Gerónimo, directora de mi trabajo de tesis, por sus
consejos, apoyo y comprensión.

A todas las personas a quienes tuve la oportunidad de conocer durante mi paso por esta
facultad, especialmente a mis compañeros “Los Acuchilladores”, con quienes compartí
inolvidables momentos de alegría.

“Lo máspreciado que posee el hombre es la vida. Se le otorga una sola vez, y hay que
vivirla de forma que no se sienta un dolor torturante por los años pasados en vano, para
que no queme la vergüenza por el ayer vil y mezquino, y para que al morir se pueda
exclamar: ¡Toda la vida y todas las fuerzas han sido entregadas a lo más hermoso del
mundo, a la lucha por la liberación de la humanidad!”
Nikolai Ostrovski.

ÍNDICE DEL CONTENIDO

	Pág.
LISTA DE CUADROS.....	iii
LISTA DE ANEXOS.....	iv
RESUMEN.....	v
ABSTRACT.....	vi
I.INTRODUCCIÓN.....	1
II.REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA.....	3
1.- Aspectos Históricos.....	3
2.- Agente Causal.....	4
2.1. Taxonomía y Clasificación.....	4
2.2. Biología de las Leptospiras.....	5
2.3. Métodos de Cultivo.....	6
3.- Epidemiología.....	7
3.1. Clima y Ecología.....	7
3.2. Rango de Hospederos.....	8
3.3. Mecanismo de Transmisión.....	9
3.4. Factores de Riesgo.....	10
3.5. Prevalencia.....	11
3.5.1. En el Hombre.....	11
3.5.2. En los Animales Domésticos.....	12
3.5.3. En los Animales Silvestres.....	15
4.- Patogenia.....	15
5.- Inmunidad.....	17
6.- Diagnóstico.....	17
6.1. Diagnóstico Epidemiológico.....	18
6.2. Diagnóstico Clínico.....	18
6.3. Diagnóstico de Laboratorio.....	18
6.3.1. Detección de Anticuerpos.....	18
6.3.1.1. Test de Aglutinación Microscópica (MAT).....	18
6.3.1.2. Inmunoabsorvancia Ligada a Enzima (ELISA).....	19
6.3.2. Detección del Organismo, su Antígeno o su ADN.....	20
6.3.2.1. Cultivo y Aislamiento.....	20
6.3.2.2. Reacción en cadena de la Polimerasa (PCR).....	21
6.3.2.3. Técnicas Histológicas e inmunohistoquímicas.....	21
6.3.2.4. Inmunofluorescencia.....	22
6.3.2.5. Microscopia en Campo Oscuro.....	22
7.- Control.....	22
III.MATERIALES Y MÉTODOS.....	23
1. Lugar de Estudio.....	23
2. Animales.....	23
3. Equipos y Materiales.....	24
3.1. Equipos.....	24
3.2. Materiales.....	24
4. Métodos.....	25
4.1. Tamaño Muestral.....	25
4.2. Colección de Muestras.....	26

4.3. Detección de Anticuerpos.....	26
4.3.1. Prueba Tamiz.....	26
4.3.2. Titulación de Anticuerpos.....	27
4.4. Análisis Estadístico.....	27
IV. RESULTADOS.....	28
V. DISCUSIÓN.....	33
VI. CONCLUSIONES.....	36
VII. LITERATURA CITADA.....	37
VIII. APÉNDICE.....	46

LISTA DE CUADROS

	Pág.
Cuadro 1. Distribución de porcinos muestreados de ambos tipos de crianza.....	24
Cuadro 2. Sueros de porcinos de crianza tecnificada y no tecnificada positivos a anticuerpos contra <i>Leptospira</i> sp. (2008).....	29
Cuadro 3. Frecuencia de anticuerpos contra ocho serovares de <i>Leptospira</i> sp. en porcinos procedentes de crianza tecnificada y no tecnificada (2008).....	29
Cuadro 4. Distribución de las muestras positivas a anticuerpos contra <i>Leptospira</i> sp. en porcinos procedentes de crianza tecnificada y no tecnificada, según grupo etario (2008).....	30
Cuadro 5. Títulos de anticuerpos contra seis serovares de <i>Leptospira</i> sp. en sueros de porcinos provenientes de crianza tecnificada (2008).....	30
Cuadro 6. Títulos de anticuerpos contra seis serovares de <i>Leptospira</i> sp. en sueros de porcinos provenientes de crianza no tecnificada (2008).....	31
Cuadro 7. Título de anticuerpos contra uno o más serovares de <i>Leptospira</i> sp. en cerdos provenientes de crianza tecnificada (2008).....	31
Cuadro 8. Título de anticuerpos contra uno o más serovares de <i>Leptospira</i> sp. en cerdos provenientes de crianza no tecnificada (2008).....	32
Cuadro 9. Resultados de la Regresión Logística para la evaluación de factores asociados a la presentación de <i>Leptospira</i> en cerdos al beneficio (2008).....	32

LISTA DE ANEXOS

	Pág.
Cuadro A1. Características clínicas asociadas con las infecciones por leptospirosis en los animales domésticos.....	47
Anexo 1. Resultados de la Regresión Logística en las que se evaluaron las variables tipo de crianza, sexo y edad, asociados a anticuerpos a <i>Leptospira</i> sp.....	48
Anexo 2. Tablas de contingencia y resultados obtenidos mediante la prueba de Chi-Cuadrado para la evaluación de asociación entre la presencia de anticuerpos y las variables tipo de crianza, sexo y edad.....	50

RESUMEN

El objetivo del presente estudio fue determinar la frecuencia de anticuerpos contra ocho serovares de *Leptospira* en porcinos provenientes de crianza tecnificada y no tecnificada del valle de Lima. Con este fin se colectaron muestras de sangre de porcinos (n= 338) durante el beneficio en dos mataderos de la ciudad de Lima para la detección de anticuerpos contra *Leptospira* sp., mediante la prueba de microaglutinación. El $86.1 \pm 3.7\%$ (291/338) de las muestras fue positivo a uno o más serovares de *Leptospira* sp. El $89.9 \pm 4.5\%$ (152/169) y el $82.2 \pm 5.8\%$ (139/169) de las muestras de porcinos de crianza tecnificada y no tecnificada respectivamente tuvieron anticuerpos contra *Leptospira* sp. El serovar *icterohaemorrhagiae*, *pomona* y *georgia* fueron los más difundidos en la población de porcinos de ambos tipos de crianza. No se detectaron anticuerpos contra los serovares *bratislava* y *grippothyphosa*. Los títulos de anticuerpos tuvieron un rango entre 1: 100 a 1:800 en animales de crianza tecnificada, mientras que en animales de crianza no tecnificada alcanzaron un rango de 1: 100 a 1:1600. El 45.3% de los títulos entre 400 a 1600 fueron de crianza no tecnificada frente al 16.4% de los títulos en animales de crianza tecnificada. Anticuerpos a más de un serovar fue detectado en los animales de ambos tipos de crianza en donde las infecciones por los serovares *icterohaemorrhagiae* y *pomona* fueron los más frecuentes. Las variables tipo de crianza, edad y sexo no constituyeron factores de riesgo para la infección por *Leptospira* sp.

Palabras clave: porcinos, microaglutinación, anticuerpos, *Leptospira* sp., serovar.

ABSTRACT

The objective of the present study was to determine the frequency of antibodies against eight serovars of *Leptospira* in pigs originating of technified and no technified breeding from the valley of Lima. To this end were collected blood samples of pigs (n = 338) during the sacrifice at two slaughterhouses of the city of Lima for the detection of antibodies against *Leptospira* sp., by means of the microagglutination test. $86.1 \pm 3.7\%$ (291/338) of samples was positive to one or more serovars of *Leptospira* sp. $89.9 \pm 4.5\%$ (152/169) and $82.2 \pm 5.8\%$ (139/169) of samples in pigs originating of technified and no technified breeding, respectively, had antibodies against *Leptospira* sp. The serovars *icterohaemorrhagiae*, *pomona* and *georgia* were the most extended in pig population of both types of breeding. No antibodies were detected against the serovars *bratislava* and *grippothyphosa*. The antibody titles had a range between 1:100 to 1:1600 in animals of both types of breeding, but 45.3% of the animals with titles between 400 to 1600 were of no technified breeding versus 16.4 % in the animals of technified breeding. Antibodies to more of a serovar were detected in the animals of both types of breeding in where the infections for the serovars *icterohaemorrhagiae* and *pomona* were the most frequent. The variables type of breeding, sex, and age not constitute factors of risk for the infection for *Leptospira* sp., in this two type of pigs operations.

Keywords: pigs, microagglutination, antibodies, *Leptospira* sp., serovar.

I. INTRODUCCIÓN

La población porcina del Perú es de aproximadamente 2'500,000 animales distribuidos en todo el país. De esta población, el 14,6% constituyen porcinos de razas definidas criados con una adecuada tecnología, logrando un mejoramiento significativo desde el punto de vista técnico de productividad (crianza tecnificada) principalmente en la costa. El resto son porcinos cruzados o de razas pero criados con pobre o sin tecnología, que conduce a baja productividad y alto costo (crianza no tecnificada) principalmente en la sierra, selva y parques porcinos (Censo Nacional Agropecuario, 1995). No obstante, cálculos estimados por la Dirección General de Información Agraria (2005) consideran una población porcina de 3'005,700 animales.

La porcicultura como actividad comercial se encuentra sumergida en un círculo vicioso de bajo consumo, precio bajo, baja rentabilidad, nula promoción del consumo, que nuevamente alimenta el bajo consumo y sus consecuencias negativas (Kalinowski, 2004). Además, su producción sigue caracterizándose por provenir de crías familiares, extensivas, las mismas que tienen gran importancia socioeconómica. A pesar de estos inconvenientes, la porcicultura en el Perú viene experimentando en los últimos años un creciente desarrollo, que se ve limitado por otros factores, siendo uno de ellos las enfermedades infecciosas como la leptospirosis, una enfermedad zoonótica de compleja epidemiología con amplia distribución mundial y de comportamiento endémico.

En el país existen escasos referentes sobre la situación zoonosanitaria de la ganadería porcina para enfermedades como la leptospirosis. Esta enfermedad es actualmente identificada como un

problema de salud pública y salud animal en todo el mundo, a causa del incremento de su incidencia tanto en países desarrollados y países en vías de desarrollo (Bharti *et al.*, 2003; Vijayachari *et al.*, 2008). Es causada por *Leptospira*, una bacteria que presenta numerosos serotipos o serovares actualmente conocidos como genomoespecie que incluyen todos los serovares de leptospirosis patógenas y saprófitas (Levett, 2001).

En animales de producción como el porcino, leptospirosis se caracteriza por la ocurrencia de abortos en el tercio final de la gestación, repetición de celo, momificación fetal, mortinatos, nacimiento de lechones débiles, bajo número de lechones al parto, descarga vulvar y muerte embrionaria (Delbem *et al.*, 2004; Naito *et al.*, 2007). Siendo reconocida como una causa de importantes pérdidas económicas y un potencial de riesgo para la salud humana (Miller *et al.*, 1990; Almenteros *et al.*, 2004).

A pesar de la reconocida importancia de la leptospirosis, la información sobre su prevalencia en porcinos del país es escasa, por lo que, el presente estudio tuvo como objetivo determinar la frecuencia de *Leptospira* sp. en porcinos procedentes de crianza tecnificada y no tecnificada beneficiados en dos mataderos de la ciudad de Lima.

I. REVISIÓN BIBLIOGRÁFICA

1. Aspectos Históricos

Weil publicó la primera descripción de leptospirosis en el hombre en 1886, cuando describió una enfermedad que causaba ictericia y falla renal, diferente a otras enfermedades infecciosas conocidas (Boqvist, 2002). Esta enfermedad comúnmente referida como la enfermedad de Weil se convirtió en sinónimo de leptospirosis (Vijayachari *et al.*, 2008). En 1907, Stimson demostró por tinción con plata la presencia de grupos de espiroquetas en los túbulos renales de un paciente cuyo deceso fue reportado como fiebre amarilla. Las espiroquetas tenían terminaciones curvas y Stimson las denominó *Spirochaeta interrogans* por su parecido a un signo de interrogación (Levett, 2001; Sambasiva *et al.*, 2003).

Su naturaleza contagiosa y origen microbial fue demostrada independientemente en 1915, primero en Japón por Inada e Ido (*Spirochaeta icterohaemorrhagiae*) y poco después en Alemania (*Spirochaeta icterogenes*) por Uhlenhuth y Fromme. Ambos grupos aislaron, cultivaron y describieron leptospiras patogénicas (Sambasiva *et al.*, 2003). Tan pronto como se identificó que la enfermedad de Weil era causada por leptospiras, fue reconocido que otras enfermedades tenían etiología leptospiral. Estas incluyeron al “nanukayami” o la fiebre japonesa de los siete días, “akiyami” o la fiebre de la cosecha y más recientemente la fiebre de Andaman o la fiebre hemorrágica de Andaman (Vijayachari *et al.*, 2008).

La importancia de la ocupación como un factor de riesgo fue reconocida tempranamente. Su naturaleza zoonótica y el rol de las ratas como vectores fue demostrado en 1917 por Ido *et al.* (Levett, 2001). En 1918, Noguchi propuso el nombre *Leptospira*, siguiendo detalladamente

observaciones en microscopio y en cultivo (Sambasiva *et al.*, 2003).

La leptospirosis en animales de producción fue reconocida algunos años después (Levett, 2001). La ictericia y hemoglobinuria de los bovinos presente en muchos países fue reconocida en 1935 por Michin y Azinov, en la ex Unión Soviética, como leptospirosis; lo que quedó definitivamente corroborado por Terskich (1940) con la identificación del agente causal a partir de un ternero enfermo (Horsch, 1981).

2. Agente Causal

2.1. Taxonomía y Clasificación

El genero *Leptospira* (Gr. Lepto= fino y espira= espiral) pertenece a la familia *Leptospiraceae* y al orden *Spirochaetales*, los cuales se diversificaron tempranamente en la evolución de las bacterias (Céspedes, 2005).

Tradicionalmente, las leptospiras fueron divididas en dos especies serológicas, donde la mayoría de leptospiras patógenas fueron agrupadas dentro del complejo “interrogans” (posteriormente, *Leptospira interrogans* sensu lato). Todas las otras fueron agrupadas en el complejo “biflexa” (posteriormente, *Leptospira biflexa* sensu lato), el cual contiene principalmente cepas saprofitas (Bharti *et al.*, 2003). Las dos especies fueron diferenciadas por características de crecimiento, tal como el crecimiento de *L. biflexa* a 13°C y en la presencia de 8- azaguanina (225 ul/ml) y por la falla de *L. biflexa* para formar células esféricas en solución de 1 M NaCl (Levett, 2001; Boqvist, 2002).

La unidad taxonómica en *Leptospira* es el serovar. Ambos complejos (*L. interrogans* y *L. biflexa*) han sido divididos en numerosos serovares por la prueba de aglutinación cruzada (CAAT) (Céspedes, 2005). Los serovares relacionados antigénicamente son clasificados por conveniencia dentro de serogrupos (Bharti *et al.*, 2003). Más de 60 serovares de *L. biflexa* sensu lato vienen siendo descritos y más de 200 serovares, clasificados dentro de 24 serogrupos, son reconocidos dentro de *L. interrogans* sensu lato (Levett, 2001).

Recientemente la clasificación fenotípica de leptospiras está siendo reemplazada por una genotípica, en la cual un número de genomoespecies incluyen todos los serovares tanto de *L. interrogans* y *L. biflexa* (Levett, 2001). Esta clasificación esta basada en la homología del ADN

y esta dividida en 17 especies, definido en 70% de homología y en 5% de divergencia del ADN (Bharti *et al.*, 2003).

Las genomoespecies de *Leptospira* no corresponden a las dos especies conocidas (*L. interrogans* y *L. biflexa*) y ciertamente, los serovares patógenos y no patógenos se ubican dentro de la misma especie. Además, recientes estudios han incluido múltiples cepas de algunos serovares y demostraron heterogeneidad genética dentro de los serovares (Levett, 2001).

La reclasificación de las leptospiros por bases genotípicas es taxonómicamente correcta y provee una sólida base para clasificaciones futuras (Levett, 2001), no obstante, esta clasificación coexiste con la anterior clasificación serológica, debido a que la caracterización genética es posible en sólo unos pocos laboratorios de búsqueda y referencia para leptospiros (Bharti *et al.*, 2003). Además, la clasificación genotípica es problemática para los microbiólogos clínicos, porque es claramente incompatible con el sistema de serogrupos que ha sido de utilidad para los investigadores por muchos años (Levett, 2001).

2.2. Biología de las Leptospiras

Las leptospiros son bacterias helicoidales, con extremos libres que terminan en forma de gancho; son móviles, aerobias, cultivables y miden de unas 6 a 20 micras de largo por 0,1 micras de diámetro (Levett, 2001; Acha y Szyfres, 2003). A causa de su estrecho diámetro, las leptospiros sólo pueden ser visualizadas por un microscopio de campo oscuro o de contraste de fase, además no se tiñen fácilmente con colorantes a base de anilina (Sambasiva *et al.*, 2003). En medios líquidos llevan a cabo tres formas principales de movimiento: traslación, flexión y rotación. Además, en medios semisólidos pueden realizar movimientos de perforación (Latre, 2002).

Investigaciones con el microscopio electrónico de transmisión en *Leptospira pomona* demostraron tres estructuras principales: el cilindro espiral protoplásmico que presenta granulaciones electrodensas del ARN y el nucleóide conteniendo el ADN, una membrana externa de aspecto ondulante que envuelve al organismo, y dos flagelos o filamentos axiales localizados entre la membrana externa y el cilindro protoplásmico cerca de cada extremo del organismo (Ritchie y Ellinghausen, 1964). La separación accidental de los flagelos en algunas células demostró que éstos cumplen una función locomotora y no de soporte, ya que la forma helicoidal de la célula se mantiene (Macedo, 2005).

El lipopolisacárido (LPS) leptospiral es el principal antígeno de superficie y la variación de su estructura es la base para los más de 200 serovares patogénicos de *Leptospira* que vienen siendo identificados. A pesar de su importancia en la inmunidad y diagnóstico, es escaso el conocimiento sobre la genética y la química del LPS leptospiral (Bulach *et al.*, 2000). El LPS leptospiral presenta una composición similar a otras bacterias gramnegativas, pero con menor actividad endotóxica (Levett, 2001).

Las leptospiras son aerobias obligadas. Se cultivan en medios artificiales a una temperatura óptima de crecimiento entre los 28°C a 30°C con un pH 6.8 a 7.4; son catalasa y oxidasa positivos (Bharti *et al.*, 2003; Sambasiva *et al.*, 2003). Las vitaminas B2 y B12, y los ácidos grasos de cadena larga son los únicos componentes orgánicos requeridos para su crecimiento. Los ácidos grasos son su principal fuente de energía y carbono. A causa de la inherente toxicidad de los ácidos grasos libres, estos deben ser suministrados a las leptospiras ligados a albúminas o en forma esterificada no tóxica (Sambasiva *et al.*, 2003).

Leptospira es incapaz de utilizar carbohidratos exógenos como fuente de carbono. A causa de esta peculiaridad metabólica todos los azúcares que son incorporados en el LPS leptospiral deben ser sintetizados de nuevo (Bulach *et al.*, 2000). Las sales de amonio son una efectiva fuente de nitrógeno celular. Las leptospiras incorporan bases purina, pero no bases pirimidinas en su ácido nucleico. Debido a ello resisten la actividad antibacterial del 5- fluorouracilo, un análogo de la base pirimidina (Sambasiva *et al.*, 2003).

2.3. Métodos de Cultivo

Los tipos de medio utilizados para el aislamiento y cultivo de leptospiras son enriquecidos con suero o albúmina más polisorbatos. Un medio ampliamente utilizado es Ellinghausen-McCullough-Johnson-Harris (EMJH), el cual contiene 1% de albúmina sérica bovina (BSA) y Tween 80 (Levett, 2001; Bharti *et al.*, 2003). Algunas cepas son más exigentes y requieren la adición ya sea de piruvato o suero de conejo para el aislamiento inicial (Levett, 2001).

El crecimiento de contaminantes puede ser inhibido por la adición de agentes selectivos tales como 5-fluorouracilo, sulfato de neomicina, polimixina B, rifampicina, vancomicina, entre otros (Bharti *et al.*, 2003). El 5- fluorouracilo es comúnmente utilizado para el aislamiento selectivo de *Leptospira*, aunque en algunas ocasiones permite el crecimiento de contaminantes (Oie *et al.*, 1986).

El crecimiento de *Leptospira* es a menudo lento en aislamientos primarios y los cultivos deben ser conservados hasta por 13 semanas antes de ser descartados, pero subcultivos puros en medios líquidos, usualmente crecen dentro de los 10 a 14 días (Levett, 2001). Los medios líquidos son convertidos a forma semisólida por la incorporación de 0,1% o 0,2% de agar y a la forma sólida por la adición de 1% de agar (Sambasiva *et al.*, 2003).

Los cultivos de *Leptospira* pueden ser mantenidos por subcultivos repetidos, aunque tienen el inconveniente de no conservar la virulencia por largo tiempo (Fajardo *et al.*, 1998). La criopreservación a -70° C con el uso de un apropiado agente crioprotector permitió mantener estable la viabilidad, virulencia y antigenicidad de cepas de leptospirosis durante al menos siete meses de conservación (Borrero *et al.*, 2006).

3. Epidemiología

3.1. Clima y Ecología

La leptospirosis es reportada en todo el mundo pero con mayor incidencia en ciudades tropicales de América Latina, India, sureste de Asia e incluso en áreas de clima templado como el Japón y países de la Unión Europea (Michel *et al.*, 2002). La enfermedad es estacional, con picos de incidencia en verano u otoño en regiones templadas, donde la temperatura es el factor limitante para la supervivencia de las leptospirosis y durante la estación de lluvias en regiones de clima tropical, donde la rápida desecación afectaría su supervivencia (Levett, 2001; Latre, 2002). Sin embargo, no se excluye que casos de leptospirosis se presenten en climas fríos, aunque con menos frecuencia (Acha y Szyfres, 2003).

Las especies de leptospirosis son altamente susceptibles en condiciones medioambientales adversas (Triampo *et al.*, 2004) y su supervivencia en el medio ambiente requiere de un alto grado de humedad ambiental, un pH neutro o ligeramente alcalino y temperaturas adecuadas (Vanasco *et al.*, 2000; Levett, 2001; Acha y Szyfres, 2003).

Terrenos bajos anegadizos, receptáculos naturales o artificiales de agua dulce (lagunas, arroyos, embalses y otros) son favorables a su supervivencia (Acha y Szyfres, 2003). Bajo condiciones de laboratorio en medios acuáticos (pH 7.2) carentes de nutrientes, pueden mantenerse viables durante 98 días (Trueba *et al.*, 2002) y bajo las mismas condiciones en medio semisólido sobrevivieron 347 días, formando agregados celulares, que al parecer es un mecanismo de *Leptospira* sp. para sobrevivir en condiciones adversas (Trueba *et al.*, 2004).

La composición química del suelo tanto en el aspecto fisicoquímico como biológico (población microbiana) también influyen en alargar o abreviar su vida en el medioambiente (Acha y Szyfres, 2003). Factores adversos como salinidad, contaminación química, por ejemplo, hipocloritos y detergentes (Turner, 1973), lodo de tierra y aguas servidas domésticas, disminuyen el tiempo de sobrevivencia (Levett, 2001).

3.2. Rango de Hospederos

Los animales, incluidos los humanos, pueden ser divididos entre hospederos de mantenimiento y hospederos accidentales (incidentales) (Levett, 2001). En regiones particulares diferentes serovares de *Leptospira* son prevalentes y están asociados con uno o más hospederos de mantenimiento, los cuales sirven como reservorios de la infección (Bolin y Alt, 1999).

Un animal infectado con una serovariedad del microorganismo adaptada al hospedero es un hospedero de mantenimiento o “reservorio”. Un hospedero de mantenimiento se caracteriza por tener una alta susceptibilidad a la infección, transmisión endémica entre miembros de la misma especie, patogenicidad relativamente baja frente al serovar infectante, tendencia a sufrir enfermedad crónica en lugar de aguda, persistencia del serovar infectante en los riñones y a veces en el aparato genital, respuesta de anticuerpos baja frente a la infección, que dificulta el diagnóstico y baja eficacia de la vacunación para prevenir la infección (Radostits *et al.*, 2002). La transmisión de la infección entre hospederos de mantenimiento se realizará independientemente de las condiciones climáticas y ambientales (Alonso *et al.*, 2001).

La exposición de animales susceptibles a serovares no adaptados al hospedero produce una enfermedad accidental o incidental, que se caracteriza por tener susceptibilidad relativamente baja a la infección, patogenicidad alta frente al serovar infectante, tendencia a sufrir enfermedad aguda en lugar de crónica, transmisión esporádica entre miembros de la misma especie, adquisición de la infección de otra especie (comúnmente en forma de epidemia), fase renal corta, intensa respuesta de anticuerpos frente a la infección, facilitando el diagnóstico y eficacia de la vacunación para prevenir la infección (Radostits *et al.*, 2002). En este tipo de infección las condiciones medioambientales son críticas para determinar su transmisión (Bolin y Alt, 1999).

Los más importantes hospederos de mantenimiento son pequeños mamíferos que pueden transmitir la infección a animales domésticos de granja, perros y humanos (Levett, 2001). Varias asociaciones hospedero-serovar parecen ser ubicuas (Bharti *et al.*, 2003), por ejemplo la rata noruega (*Rattus norvegicus*) es reconocida en todo el mundo como un eficiente hospedero

de mantenimiento del serovar *icterohaemorrhagiae* (Thiermann, 1981), asimismo, los ratones lo son de los serovares del serogrupo *ballum* (Bharti *et al.*, 2003).

Los animales domésticos son también hospederos de mantenimiento; el ganado lechero puede ser portador de los serovares *hardjo*, *pomona* y *grippothyphosa*; los ovinos de *hardjo* y *pomona*; los perros de *canicola* y los cerdos de *pomona*, *tarassovi* o *bratislava* (Levett, 2001). Distintas variaciones en los hospederos de mantenimiento y sus serovares ocurren a través de todo el mundo. El conocimiento de los serovares prevalentes y sus hospederos de mantenimiento es esencial para comprender la epidemiología de la enfermedad en cualquier región (Levett, 2001).

3.3. Mecanismos de Transmisión

La infección del hombre y de los animales se produce por vía directa o indirecta, a través de abrasiones en la piel y de las mucosas bucal, nasal y conjuntival (Levett, 2001; Radostits *et al.*, 2002; Acha y Szyfres, 2003). La transmisión por contacto directo puede producirse de diversas maneras, siendo una de las más importantes la entrada de leptospiras por vía inhalatoria o conjuntival, procedentes de núcleos goticulares formados por la dispersión de la orina de los animales infectados (Alonso *et al.*, 2001).

Otras formas de transmisión directa pueden ser por transmisión venérea y transplacentaria (Radostits *et al.*, 2002). Raramente la infección puede producirse por la mordedura de animales (Levett, 2001). No obstante, se cuestiona su transmisión porque leptospira no es excretada en la saliva (Turner, 1969). La transmisión directa también podría producirse por la leche, pero al tener ésta un efecto bactericida hace que la transmisión al lactante sea poco frecuente (Latre, 2002).

La transmisión indirecta es la más importante (Turner, 1969), ésta juega un papel más destacado en el caso de infecciones por serovares accidentales. La forma de transmisión más frecuente, tanto en el hombre como en los animales, es el contacto de la piel o mucosas con agua o barro contaminados con orina infectada (Alonso *et al.*, 2001). La inoculación oral es un método insatisfactorio para la transmisión experimental, en comparación con la inyección y la instilación en la cavidad nasal, saco conjuntival y vagina (Chaudhary *et al.*, 1966; Radostits *et al.*, 2002).

3.4. Factores de Riesgo

La infección en humanos se relaciona principalmente con el riesgo laboral y recreacional (Zunino y Pizarro, 2007). Actividades laborales como el trabajo en los arrozales, minería y trabajos en agricultura y ganadería (veterinarios, ganaderos, trabajadores de mataderos, inspectores de carne), así como ciertas actividades recreativas que implican contacto con aguas posiblemente contaminadas (baños en medios naturales, deportes acuáticos, etc.), son de alto riesgo de exposición a leptospirosis (Alonso *et al.*, 2001; Acha y Szyfres, 2003; Boqvist, 2003b).

La leptospirosis a llegado a ser reconocida como un importante factor de riesgo ocupacional en la industria ganadera de todo el mundo (Kingscote, 1985; Levett, 2001). De este modo, los operarios de establos lecheros son muy susceptibles a la infección por *Leptospira interrogans* serovariedad *hardjo* (Radostits *et al.*, 2002). En granjas porcinas los operarios pueden adquirir la infección al intervenir en partos distócicos auxiliando en el trabajo de parto con la realización de toque en las marranas, muchas veces sin protección para las manos y brazos (Girio *et al.*, 1987).

En Tumbes, Perú, Licerias e Hidalgo (1970), examinaron 26 sueros de trabajadores de un matadero, encontrando que 2 (7.7%) presentaron anticuerpos a los serovares *pomona* y *autumnalis*, considerando entre las causas que determinaron la infección, el beneficio de animales infectados, las precarias condiciones de trabajo que permitía la contaminación de la piel y del suelo con la sangre y orina infectadas; asimismo, a la presencia de perros y ratas en el mismo matadero o en el domicilio de los trabajadores. Jaramillo *et al.* (2001), investigaron serológicamente a 17 trabajadores del camal municipal de Huaraz-Ancash, encontrando anticuerpos a leptospiras en un trabajador (6%), como factor de riesgo domiciliario se consideró la presencia de roedores en casa.

Un brote de leptospirosis ocurrió en militares que realizaron ejercicios de campaña en la selva alta del departamento de Junín, donde 72 de los 193 expuestos, fueron hospitalizados y presentaron anticuerpos a *Leptospira*, siendo los serovares *cynopteri*, *bataviae* y *djasiman* los más frecuentes; al parecer, la causa del brote se debió a la exposición de un amplio grupo de militares a una fuente de agua contaminada con la orina de animales infectados (Russell *et al.*, 2003).

La caza de animales es una actividad de riesgo en muchas partes del mundo, por ejemplo, en Australia, los cazadores de cerdos salvajes son potencialmente susceptibles a la infección con leptospirosis, a través del contacto directo con tejidos, sangre y orina de animales infectados. Además, al exponerse en áreas donde existen fuentes de agua y alta densidad local de cerdos salvajes, el riesgo de infección es probablemente mayor (Mason *et al.*, 1998).

Se han identificado algunos factores de gestión como riesgo de infección en establos o granjas (Radostits *et al.*, 2002), tales como la adquisición de nuevos animales que son portadores de *Leptospira*, exposición a un medio ambiente contaminado o por medio del contacto con otras especies contaminadas. El estado inmune de una granja también es un factor importante. En una granja con baja inmunidad o en una granja no infectada anteriormente, los signos clínicos pueden ser vistos en todas las categorías de edad y hay substanciales pérdidas reproductivas principalmente debido a abortos (Boqvist, 2003a).

3.5. Prevalencia

3.5.1. En el Hombre

Los estudios de leptospirosis en personas, realizados en nuestro país, han revelado seroprevalencias que varían de 13 a 36% con variaciones de acuerdo al medio geográfico, la ocupación y época del año en que se realizó el estudio (Céspedes *et al.*, 2004). Desde 1994 hasta el año 2004 se han confirmado casos en 18 de las 24 regiones del Perú, pertenecientes a las tres áreas geográficas (costa, sierra y selva) (Céspedes *et al.*, 2006).

La región que más casos confirmados tuvo fue Loreto (21.6%), asimismo, es la región donde se han hallado anticuerpos para todos los serogrupos identificados en el Perú (21 serogrupos en total). Con respecto a la cantidad de casos confirmados para cada serogrupo en el periodo 1994-2004, destaca en la región de la selva el serovar *varillal* (14.46%), seguido de *icterohaemorrhagiae* (11.35%), *australis* (9.70%), *autumnalis* (9.25%), *mini* (9%), *djasiman* (6.78%) y otros en menor proporción (Céspedes *et al.*, 2006).

En Brasil, Almeida *et al.* (1999), reportaron una prevalencia de 10.36% en un grupo de trabajadores de saneamiento ambiental de la ciudad de Pelotas, Rio Grande del Sur. En Colombia, Agudelo *et al.* (2007), realizaron un estudio para determinar la prevalencia de leptospirosis en 582 habitantes de la zona urbana de la región de Úraba, detectando anticuerpos en 73 de ellos (12.15%).

3.5.2. En los Animales Domésticos

La leptospirosis canina constituye sin lugar a dudas una de las principales fuentes de contagio para el hombre (Rivera *et al.*, 1999). Los serovares predominantes en todo el mundo para esta especie son *canicola* e *icterohaemorrhagiae*. Además de estos serovares en América latina y el Caribe se han aislado *pyrogenes*, *paidjan* y *tarassovi* (Acha y Szyfres, 2003).

En Perú, Lluncor (1960), reportó una prevalencia de 30% en caninos de Lima, encontrando a los serovares *canicola*, *icterohaemorrhagiae* y *bataviae* como los más frecuentes. Estudios serológicos en caninos de Ucayali y Chancay reportaron prevalencias de 52.2% y 27.8% respectivamente; en ambos estudios los serovares más frecuentes fueron *canicola*, *icterohaemorrhagiae* y *pyrogenes* (Céspedes *et al.*, 2004, 2007).

En Cali, Colombia, Rodríguez *et al.* (2004), realizaron un estudio serológico con 197 perros callejeros, encontrando que 81 (41,1%) presentaron anticuerpos a *Leptospira*, los serovares más frecuentes fueron *icterohaemorrhagiae* (55.6%), *hardjo* cepa *hardjobovis* (54.3%), *grippotyphosa* (45.7%) y *canicola* (38.3%). En México, un estudio similar reportó que 52 (38.51%) de 135 sueros caninos evaluados, fueron positivos a anticuerpos de *Leptospira*, siendo los serovares *castellonis* (50%), *pyrogenes* (38.46%) y *canicola* (26.92%) los más frecuentes (Rivera *et al.*, 1999).

En bovinos, los serovares de mayor importancia son *hardjo* y *pomona* en América del norte, América del sur, Australia y Nueva Zelanda, mientras que *hardjo* lo es en Europa (Bolin y Alt, 1999). No obstante, los serovares *pomona* y *hardjo* son considerados universales para esta especie, siendo incriminados frecuentemente en brotes de leptospirosis en distintas partes del mundo (Valli, 1991; Acha y Szyfres, 2003).

Evidencia serológica y aislamientos realizados indican que los serovares *pomona* y *serjoe*, tienen importancia epidemiológica en bovinos de nuestro país. Un estudio serológico de 110 vacunos en Tumbes, 32 (29.1%) resultaron positivos, con mayor prevalencia para los serovares *pomona* (13.6%) y *serjoe* (10%) (Liceras e Hidalgo, 1970). En Puno, 3 (2.9%) de 103 sueros bovinos fueron positivos a anticuerpos leptospirales, el serovar involucrado fue *icterohaemorrhagiae* (Cachata *et al.*, 2008).

En Ahvaz, Irán, Haji *et al.* (2006), examinaron 189 sueros de búfalos (*Bubalus bubalis*) sacrificados en un matadero, encontrando que 111 (58.73%) presentaron anticuerpos contra

leptospiras, resultando los serovares más frecuentes *canicola* (24.52%) seguido de *hardjo* (19.35%), *grippotyphosa* (18.06%), *ballum* (16.03%), *pomona* (12.26%) e *icterohaemorrhagiae* (8.39%).

Las epizootias en ovinos y caprinos no son muy frecuentes (Acha y Szyfres, 2003). La leptospirosis en ovejas puede causar pérdidas en corderos por infecciones congénitas y también por inanición de los corderos debido a la agalactia producida por la infección del serovar *hardjo* en ovejas (Radostits *et al.*, 2002). En el Perú, Liceras *et al.* (1989), realizaron un estudio serológico detectando anticuerpos contra leptospiras, encontrando predominancia en los serovares *ballum*, *pomona* y *australis*. Además, aislaron una cepa del serogrupo *hebdomadis* de una oveja en Puno.

Un estudio serológico en 354 caprinos lecheros en Rio Grande del Sur, Brasil, 12 (3.4%) presentaron anticuerpos frente a los serovares *icterohaemorrhagiae* (2.5%), *hardjo* (0.6%) y *pomona* (0.3%) (Schmidt *et al.*, 2002). En este país, Lilenbaum *et al.* (2007), investigaron serológicamente 13 rebaños caprinos donde obtuvieron 248 muestras de las cuales 52 (20.9%) tuvieron anticuerpos a siete serovares de *Leptospira*, siendo *hardjo* (36.5%) el más frecuente; asimismo, cultivaron muestras de orina de los animales seropositivos, logrando aislar dos cepas del serogrupo *grippotyphosa*.

En Perú, Herrera *et al.* (2000), realizaron un estudio serológico en 810 alpacas del altiplano de Puno, resultando 53 (6.54%) positivas a anticuerpos a *Leptospira*, siendo el serovar *pomona* (79.24%) el más frecuente. Otro estudio similar en 494 animales, entre llamas, guanacos y vicuñas de diversas regiones geográficas de Argentina, reportó prevalencias entre 47.3% y 96.2% en llamas, 0% y 13 % en guanacos y entre 2% y 62.8% en vicuñas. Los serovares más frecuentes fueron: *copenhageni* (serogrupo *icterohaemorrhagiae*), *castellonis* (serogrupo *ballum*) y *canicola* (serogrupo *canicola*) (Llorente *et al.*, 2002).

En caballos la enfermedad es relativamente leve y la pérdida, excepto las causadas por la ceguera debido a una oftalmia periódica (uveítis recurrente) son insignificantes. Varios estudios reportan una elevada seroprevalencia de *bratislava*, indicando que el caballo puede ser huésped de mantenimiento para ésta serovariedad (Radostits *et al.*, 2002). Al respecto, un estudio en Lusiana, EEUU, realizado por Hodgkin *et al.* (1989), reportaron en equinos, la infección por *Leptospira* como causa de abortos y muerte neonatal. En esta misma especie, evidencias serológicas, histopatológicas y de aislamiento fueron detectadas como causa de abortos por

Leptospira en 32 (4.4%) de 726 remisiones (fetos, mortinatos y placentas) (Donahue *et al.*, 1992).

Los serovares de *Leptospira* que infectan cerdos varían en diferentes partes del mundo (Bolin y Cassells, 1992), aunque la infección es comúnmente causada por los serovares *bratislava*, *tarassovi* y *pomona* (Boqvist, 2003a). Los serovares que con más frecuencia se aíslan de cerdos en las Américas y en el mundo son *pomona*, *tarassovi*, *grippotyphosa*, *canicola* e *icterohaemorrhagiae*, así como *bratislava* y *muenchen* del serogrupo *australis* (Acha y Szyfres, 2003).

En el Perú, Herrero *et al.* (1960) realizaron cultivos de riñón y exámenes serológicos en 500 porcinos provenientes de diversas partes del país, encontrando anticuerpos en 99 (20%) frente a los serovares *autumnalis*, *pomona* y *tarassovi* principalmente. Además, aislaron ocho cepas de *Leptospira*, cinco de las cuales fueron identificadas como *tarassovi*, dos como *pomona* y una como *canicola*. En ese mismo año, un estudio similar en 717 porcinos, reportó que 91 (13.24%) reaccionaron en su mayoría al serovar *pomona* (Martínez, 1960).

Liceras e Hidalgo (1970), realizaron cultivos de riñón y exámenes serológicos en porcinos de Tumbes. De 98 cultivos se aislaron cuatro cepas de *Leptospira*, tres de las cuales se identificaron como *pomona* y una como *canicola*; mientras que de 94 sueros examinados, 22 (23.4%) resultaron positivos, la mayor parte frente al serovar *pomona*. En Arequipa, un brote de abortos, mortinatos, fetos momificados y lechones nacidos débiles, ocurrió en una granja porcina, siendo identificado por serología y aislamiento al serovar *canicola* como el causante de dicho brote (Valdivia *et al.*, 1991).

En Iowa, EEUU, Miller *et al.* (1990), evaluaron 1264 sueros porcinos, de los cuales 480 (38%) fueron positivos a leptospirosis, asimismo los serovares *bratislava* (42%), *copenhageni* (8%) y *ballum* (4%) fueron los más frecuentes. Además, aislaron leptospirosis de 9 (1.6%) de 578 muestras, entre fetos abortados, mortinatos y cerdos que murieron pronto después de nacer; de las nueve leptospirosis aisladas, siete fueron identificadas como *pomona* y dos como *grippotyphosa*. En Tailandia, Niwetpathomwat *et al.* (2006), evaluaron 400 sueros porcinos, obteniendo 40 (10%) de muestras positivas; el serovar más frecuente fue *grippotyphosa* (55%).

3.5.3. En los Animales Silvestres

El ciclo de vida de *Leptospira* es mantenido por la circulación natural entre animales silvestres (Milas *et al.*, 2006). En áreas tropicales, con elevada variedad de especies como en la cuenca amazónica o en sudeste de Asia, los mamíferos silvestres podrían estar probablemente infectados por leptospirosis y estas leptospirosis podrían ser de alta diversidad (Bharti *et al.*, 2003).

En un estudio realizado en animales silvestres de la amazonia peruana, Licerias y Sulzer (1984), aislaron de riñones de zarigüeyas (*Didelphys marsupialis* y *Philander opossum*), seis cepas de *Leptospira interrogans*, las que en estudios posteriores fueron identificadas como nuevos serovares cuyos nombres propuestos fueron: *huallaga*, *luis*, *machiguenga*, *rioja*, *rupa rupa* y *tingomaria*. Delgado, en 1967 realizó un estudio serológico en 150 monos *Saimiri sciureus* del departamento de Loreto, encontrando anticuerpos a leptospirosis en 7 (4.66%), siendo los serovares encontrados *grippotyphosa* (2.66%), *hardjo* (1.33%), *bratislava* (0.66%).

En Canadá, se identificaron por serología y aislamiento a los zorritos como fuente primaria de infección de *Leptospira pomona* en animales de granja, causando pérdidas económicas principalmente por abortos (Mitchell *et al.*, 1966; Kingscote, 1986). Por otro lado, en Croacia un estudio serológico en 59 zorros rojos (*Vulpes vulpes*) encontró que 34 (57.6%) presentaron anticuerpos a *Leptospira interrogans*, principalmente contra el serovar *australis* (Milas *et al.*, 2000).

En Australia, Mason *et al.* (1998), evaluaron los sueros de 195 cerdos salvajes (*Sus scrofa*) capturados durante la temporada de caza, detectando anticuerpos a leptospirosis en 39 (20%) de los sueros evaluados, resultando *pomona* el serovar más frecuente.

4. Patogenia

Las leptospirosis son muy invasivas debido a su movimiento activo; así, pueden penetrar a través de la piel intacta, de pequeñas heridas y de las mucosas (incluida la conjuntiva) (Latre, 2002). Después de un variable período de incubación (3 a 20 días) las leptospirosis circulan en la sangre. Durante este período las leptospirosis ingresan y se replican en muchos tejidos, incluyendo hígado, bazo, riñones, tracto reproductivo, ojos y sistema nervioso central (Bolin y Alt, 1999). También ingresan y se multiplican en los fetos, pudiendo llevar a la muerte y reabsorción fetal, aborto o crías débiles (Soto *et al.*, 2007).

Los anticuerpos aglutinantes pueden ser detectados en suero prontamente después que las leptospiras están en el torrente sanguíneo. La aparición de anticuerpos circulantes coincide con la aclaración de leptospira en la sangre y la mayor parte de los órganos (Bolin y Alt, 1999). Sin embargo, algunas bacterias pueden evadir la respuesta inmune y persistir en el organismo, principalmente en los túbulo renales pero también en el útero, ojo o meninges (Quinn *et al.*, 2002).

Las leptospiras tienen la capacidad de unirse a las células epiteliales y adherirse a los constituyentes de la matriz extracelular a través de un proceso activo que afecta a las proteínas de superficie (Radostits *et al.*, 2002). La primera lesión que aparece en los animales infectados es la rotura de la integridad de la membrana de las células endoteliales que recubren los pequeños vasos sanguíneos por todo el organismo del hospedero (Latre, 2002; Sambasiva *et al.*, 2003). La lesión capilar es común a todas las serovariedades y durante la fase de septicemia, las petequias en las mucosas son comunes (Radostits *et al.*, 2002).

La liberación de linfocinas, como el factor de necrosis tumoral (TNF- α) por los monocitos, a través de la actividad endotóxica de las leptospiras puede ser un mecanismo de virulencia importante. La inducción de la liberación de TNF- α puede explicar el daño a las células endoteliales, que tiene como resultado la hemorragia que se observa en la leptospirosis grave (Radostits *et al.*, 2002).

Durante el período inicial de la septicemia, se puede producir una cantidad suficiente de hemolisina para provocar hemoglobinuria, como consecuencia de la hemólisis intravascular extensa. La hemólisis depende de la presencia de una serovariedad que produce hemolisina (Radostits *et al.*, 2002), por ejemplo, las serovariedades de los serogrupos *autumnalis*, *grippotyphosa*, *icterohaemorrhagiae* y *pomona* elaboran una hemolisina que probablemente es la responsable de la aparición de hemoglobinuria en los terneros infectados con esas serovariedades (Latre, 2002).

La anemia de intensidad variable es frecuente en las formas graves y puede aparecer aún en la ausencia de sangrado (Laguna, 2000). Su mecanismo en su forma inicial es aparentemente debido a las hemolisinas por el organismo y más tarde por las aglutininas producidas por el hospedero, que pueden causar anemia hemolítica continua coombs positiva del tipo intravascular (Valli, 1991).

La localización postsepticémica de las leptospiros en los riñones está asociada con inflamación intersticial focal o difusa de ese órgano y con degeneración tubular transitoria aguda (Valli., 1991). Las lesiones renales parecen iniciarse dentro de los glomérulos durante la migración de las leptospiros, luego surgen las alteraciones túbulointersticiales causadas también por la migración dentro de los capilares peritubulares para el intersticio y túbulos, responsabilizándose por el compromiso renal que puede variar de simple disminución de la función glomerular hasta insuficiencia renal (Laguna, 2000). Dentro de los túbulos, están asociadas principalmente con las microvellosidades de los túbulos proximales (Valli, 1991), induciendo lesión tubular y nefritis túbulointersticial, siendo esta última la principal manifestación causada por leptospiros patogénicas (Yang *et al.*, 2002).

5. Inmunidad

La inmunidad a leptospirosis es primordialmente de naturaleza humoral (Levett, 2001). Después de la infección se inducen anticuerpos específicos que opsonizan las leptospiros facilitando su eliminación de la mayor parte del organismo. Sin embargo, las leptospiros que alcanzan los túbulos proximales, el aparato genital y las glándulas mamarias parece que están protegidas de los anticuerpos circulantes. Estas bacterias persisten y se multiplican en estos lugares y pueden eliminarse y transmitirse a los animales susceptibles por contacto, principalmente por la orina. Además y más importante, el nivel de anticuerpos séricos normalmente disminuye hasta niveles no detectables en los animales que están infectados persistentemente (Radostits *et al.*, 2002).

La respuesta de anticuerpos es clásica, con picos de IgM que aparecen primero rápidamente seguidos por los anticuerpos IgG, los cuales persisten por más tiempo que IgM. Altos niveles de IgM pueden ser observados durante las primeras dos semanas de la enfermedad. Los anticuerpos heterólogos son género-específicos, aparecen primero pero declinan rápidamente; los anticuerpos homólogos son serovar-específicos, aparecen posteriormente y persisten largamente (Sambasiva *et al.*, 2003).

6. Diagnóstico

El diagnóstico de leptospirosis es dependiente de una buena historia clínica y de vacunación, y la disponibilidad de una prueba diagnóstica en un laboratorio con experiencia en el diagnóstico de leptospirosis (Bolin y Alt, 1999).

6.1. Diagnóstico Epidemiológico

La anamnesis debe incluir datos sobre la época del año en la que apareció el brote, la aptitud del rebaño, el estado sanitario del mismo, el contacto con otras especies domésticas, la sintomatología predominante y si se realiza o no vacunación frente a leptospirosis. Asimismo, deberá obtenerse información sobre el número de animales afectados, la edad de los mismos y la fase de gestación en que se produce el aborto (Alonso *et al.*, 2001).

6.2. Diagnóstico Clínico

Los signos clínicos de la leptospirosis son similares en cada especie animal y no varían notablemente con la especie de *Leptospira* excepto que la infección con *icterohaemorrhagiae* normalmente causa una septicemia grave (Radostits *et al.*, 2002). Las características clínicas asociadas con las infecciones por leptospirosis en los animales domésticos se muestran en el cuadro A1.

6.3. Diagnóstico de Laboratorio

Un diagnóstico de laboratorio es necesario, puesto que el cuadro clínico no es patognomónico para leptospirosis (Boqvist *et al.*, 2002). Los métodos de laboratorio implican pruebas que se dividen en dos grupos. Uno de los grupos de pruebas está diseñado para detectar los anticuerpos antileptospira, el otro está diseñado para detectar leptospirosis, antígenos de leptospirosis o ácidos nucleicos de leptospirosis en tejidos animales o en fluidos corporales (OIE, 2006).

6.3.1. Detección de Anticuerpos

6.3.1.1. Test de Aglutinación Microscópica (MAT)

La prueba serológica más ampliamente utilizada es el test de aglutinación microscópica (MAT) (Boqvist, 2002; OIE, 2006). Es considerado el método serológico definitivo por la alta especificidad y porque diagnostica el serovar infectante (Perret *et al.*, 2005). Además, constituye la prueba de referencia frente a la que se evalúan todas las otras pruebas serológicas (OIE, 2006). MAT determina anticuerpos totales (IgM e IgG), mediante aglutinación con antígenos de distintos serovares de *Leptospira*, por lo que una muestra de suero aislada no permite hacer el diagnóstico de infección aguda (Perret *et al.*, 2005). Se requieren sueros

pareados colectados durante la fase aguda y convaleciente de la enfermedad para establecer seroconversión o aumento en los títulos (Vijayachari *et al.*, 2008).

Para obtener una sensibilidad óptima deben emplearse antígenos representativos de todos los serogrupos conocidos que existen en la región en la que se han encontrado los animales y, preferiblemente cepas que representen a todos los serogrupos conocidos (Acha y Szyfres, 2003; OIE, 2006). Se puede mejorar la sensibilidad de la prueba utilizando aislamientos locales en vez de cepas de referencia, pero las cepas de referencia, ayudan en la interpretación de los resultados entre los laboratorios (OIE, 2006). Es necesario tener en cuenta que las reacciones cruzadas se producen no sólo entre diferentes serovares del mismo serogrupo, sino que al principio de la infección (2-3 semanas) también se dan entre serovares de diferentes serogrupos (Acha y Szyfres, 2003).

A pesar de la posibilidad de realizar estudios en animales individuales, MAT se considera principalmente una prueba de rebaño (Alonso *et al.*, 2001). Es la prueba más apropiada para emplear en estudios seroepidemiológicos, puesto que puede ser aplicada al suero de cualquier especie animal y la cantidad de antígenos utilizados puede ser aumentada o disminuida según se requiera (Levett, 2001). No obstante, MAT es técnicamente compleja y requiere personal entrenado para su interpretación. Por estas razones se reserva para laboratorios de referencia (Perret *et al.*, 2005).

6.3.1.2. Inmunoabsorbancia Ligada a Enzima (ELISA)

Los ELISA para detección de anticuerpos antileptospira se han elaborado empleando una serie de preparaciones antigénicas diferentes, protocolos de ensayo y programas de ensayo que incluyen pruebas en placa y pruebas en tiras reactivas (OIE, 2006). Puede ser específica frente a anticuerpos IgM o IgG. En consecuencia un resultado positivo de ELISA específico de IgM indica que la infección se produjo en el mes anterior (Radostits *et al.*, 2002; Acha y Szyfres, 2003).

En general los ELISA son bastante sensibles, pero no tiene la especificidad de serovariedades de MAT (OIE, 2006). Sin embargo, presentan algunas ventajas frente a MAT, como es el hecho de no presentar riesgo sanitario para los operarios, ser de fácil estandarización y ser una prueba en la que las reacciones cruzadas son poco frecuentes (Alonso *et al.*, 2001). Además, presentan características técnicas prácticas, incluyendo automatización y se pueden emplear eficazmente como prueba selectiva para un gran número de muestras de suero

(Radostits *et al.*, 2002). Sus principales desventajas son que normalmente son serovar específicos, con lo cual no obtendremos información acerca de una posible infección por otros serovares y que no permite diferenciar entre anticuerpos vacunales y de infección (Alonso *et al.*, 2001).

Otras pruebas se han desarrollado para detectar anticuerpos contra *Leptospira* en una infección aguda. Los métodos de hemoaglutinación indirecta, fijación del complemento, aglutinación en lámina, contraelectroinmunoforesis y aglutinación en microcápsula han tenido sus dificultades ya sea por su baja sensibilidad y especificidad, además que muchos no son reproducibles o requieren de reactivos y equipamiento muy sofisticado (Céspedes, 2005).

6.3.2. Detección del Organismo, su Antígeno o su ADN

6.3.2.1. Cultivo y Aislamiento

Los cultivos bacteriológicos de sangre, orina o muestras de tejidos es el método definitivo para el diagnóstico de leptospirosis. La leptospiremia ocurre tempranamente en el curso clínico de leptospirosis y usualmente es de corta duración (Bolin y Alt, 1999). En consecuencia, la sangre es sólo útil para el cultivo en los primeros días de la enfermedad clínica y antes de la antibioticoterapia (Haake *et al.*, 2002). Las leptospiras están usualmente presentes en la orina animal después de los 10 días del inicio de los signos clínicos (Bolin y Alt, 1999); por lo que transcurridos esos días, se pueden obtener a partir de cultivos de orina (Latre, 2002).

Si los tejidos o los fluidos no se pueden enviar al laboratorio inmediatamente para la realización de un cultivo de leptospiras, la muestra se conservara a 4°C para impedir el crecimiento excesivo de otras bacterias y la autólisis de las muestras de tejidos. Como medios de transporte para el envío de las muestras deben emplearse medios de cultivo líquido o solución de 1% de albúmina sérica bovina (BSA) con 5-fluorouracilo a una concentración de 100 – 200 ul /ml (OIE, 2006).

El cultivo es difícil y requiere varias semanas de incubación, tiene baja sensibilidad, además, los medios especiales de cultivo están presentes en pocos laboratorios (Bharti *et al.*, 2003). Sin embargo, el aislamiento del organismo del animal permite la identificación definitiva del serovar infectante (Bolin y Alt, 1999).

6.3.2.2. Reacción en Cadena de la Polimerasa (PCR)

Los ensayos basados en PCR se emplean en la actualidad en algunos laboratorios de diagnóstico y en la mayoría de laboratorios de referencia para la detección de leptospiras en tejidos y fluidos corporales (OIE, 2006). En general, la PCR realizada en orina es más confiable que la realizada en tejidos. Además, las muestras de orina pueden ser colectadas muy fácilmente en amplias cantidades y el sedimento de amplios volúmenes de orina pueden ser examinados por PCR (Bal *et al.*, 1994; Bolin y Alt, 1999).

El procesamiento de muestras de tejidos es más difícil y los tejidos pueden contener inhibidores para la reacción de amplificación y además, puede causar resultados falsos negativos. La mayor parte de pruebas PCR son capaces de detectar la presencia de leptospiras pero no son capaces para determinar el serovar infectante (Bolin y Alt, 1999). Esto no es significativo para el manejo individual del paciente. No obstante, la identidad del serovar tiene importancia epidemiológica y valor en salud pública (Levett, 2001).

El control de calidad de los ensayos de PCR utilizados para el diagnóstico de leptospirosis requiere una atención especial en lo que se refiere al diseño y al volumen de trabajo del laboratorio para prevenir la contaminación de los materiales y al uso de muestras control apropiadas (OIE, 2006).

6.3.2.3. Técnicas Histológicas e Inmunohistoquímicas

El uso de tinciones especiales en histopatología puede ser efectivo para la identificación de leptospiras en tejido animal. Los tejidos a ser examinados incluyen riñón en adultos y placenta, pulmón, hígado y riñón en caso de abortos. Las leptospiras no son visibles en tejidos utilizando tinciones comunes, pero las características inflamatorias pueden ser observadas en riñones afectados; las lesiones hepáticas son menos específicas (Bolin y Alt, 1999).

La aplicación de tinciones de plata o tinciones inmunohistoquímicas a secciones de tejidos, permiten detectar leptospiras o antígenos leptospirales en los túbulos renales y el intersticio de los riñones, hígado, pulmón o placenta. La baja sensibilidad es una desventaja de esta técnica de diagnóstico. El serovar infectante no puede ser determinado por histopatología; en consecuencia, los estudios serológicos necesitan también ser realizados (Bolin y Alt, 1999).

6.3.2.4. *Inmunofluorescencia*

La inmunofluorescencia puede ser utilizada para identificar las leptospiras en tejidos, sangre o sedimentos de orina (Bolin y Alt, 1999). La prueba es rápida, tiene buena sensibilidad y puede ser realizada en tejidos congelados, lo cual es una significativa ventaja en un diagnóstico de laboratorio (Bolin *et al.*, 1991; Bolin y Alt, 1999). Además, es de utilidad para la detección de leptospiras en tejidos fetales, ya que el aislamiento a partir de los mismos es difícil debido a que por procesos de autólisis las leptospiras pierden su viabilidad (Alonso *et al.*, 2001).

La interpretación de la prueba de inmunofluorescencia puede ser difícil y requiere personal de laboratorio entrenado. Por otro lado, los conjugados de anticuerpos fluorescentes comúnmente disponibles no son serovares específicos y los exámenes serológicos son aún requeridos para identificar el serovar infectante (Bolin y Alt, 1999).

6.3.2.5. *Microscopia en Campo Oscuro*

Esta técnica viene siendo utilizada como una rápida herramienta tamiz para identificar leptospiras en la orina de animales. La ventaja del microscopio de campo oscuro es la rapidez, sus desventajas incluyen baja especificidad y sensibilidad. En general, el microscopio de campo oscuro, en manos experimentadas, pueden ser de utilidad para hacer un diagnóstico preliminar positivo de leptospirosis pero no podría ser considerado para establecer un diagnóstico definitivo o para eliminar leptospirosis del diagnóstico diferencial (Bolin y Alt, 1999).

7. Control

Con el objetivo de reducir la infección, una combinación de medidas basadas en el manejo, tratamiento y vacunación pueden ser implementadas. A nivel de granja, los procedimientos de manejo pueden ser, por ejemplo, incluir medidas para reducir la población de roedores y contactos entre animales domésticos y silvestres, introducir un nuevo grupo animal separándolo del resto del hato. Para reducir la diseminación urinaria, o eliminar eventualmente leptospirosis renal, los animales pueden ser tratados con estreptomicina, oxitetraciclina, tylosina o eritromicina. Además, los agentes antimicrobiales en el alimento tales como oxitetraciclina o clortetraciclina, pueden reducir los signos clínicos, pero no estarían eliminando portadores. La vacunación puede reducir los signos clínicos y la leptospirosis en un hato, pero no estaría eliminando completamente la diseminación urinaria. Como la inmunidad es serovar-específica, una vacuna debe incluir los serovares infectantes dentro de la región (Boqvist, 2003a).

III. MATERIALES Y MÉTODOS

1.- Lugar de Estudio

Las muestras de sangre fueron colectadas en dos mataderos de la ciudad de Lima y su procesamiento se realizó en el laboratorio de virología de la facultad de Medicina Veterinaria (FMV) de la Universidad Nacional Mayor de San Marcos (UNMSM).

2.- Animales

Para el presente estudio una granja tecnificada es aquella en la cual los porcinos son criados utilizando adecuadas tecnologías en cuanto a sus instalaciones, manejo, nutrición, genética, sanidad y comercialización, obteniendo mayor eficiencia y productividad.

Una crianza no tecnificada es aquella en la cual los porcinos son criados en rústicas condiciones de salubridad, con una alimentación a base de residuos orgánicos aunque algunos pueden emplear concentrados y donde las condiciones de manejo en general son deficientes.

Entre los meses de setiembre a noviembre del 2008 se colectaron 169 muestras de porcinos mayores de cuatro meses de edad, machos y hembras, procedentes de granjas tecnificadas y 169 procedentes de criaderos no tecnificados (Cuadro 1).

Cuadro 1. Distribución de porcinos muestreados de ambos tipos de crianza

Categorías	Procedencia		Total
	Crianza tecnificada	Crianza no tecnificada	
Gorrinas	117	62	179
Gorrinos	46	71	117
Marranas	4	27	31
Verracos	2	9	11
Total	169	169	338

3.- Equipos y Materiales

3.1. Equipos

Centrífuga
 Balanza micrométrica
 Equipo de Baño maría
 Estufa 28-30 °C
 Cámara de flujo laminar
 Equipo autoclave
 Microscopio de campo oscuro

3.2. Materiales

Medio Fletcher
 Medio EMJH
 Suero estéril de conejo
 Agua desionizada
 Matraz (500 ml)
 Probeta graduada (250 ml)
 Cinta medidora de pH
 Batería de ocho antígenos de *Leptospira* sp: *pomona*, *bratislava*, *canicola*, *grippothyphosa*, *ballum*, *tarassovi*, *georgia* e *icterohaemorrhagie*.

Tubos con tapa rosca (5 – 10 ml)
Pipeta graduada (1 – 10 ml)
Propipeta
Alcohol (70° - 96°)
Microplacas de 96 pocillos
Pipeta multicanal (5 – 50ul)
Láminas portaobjetos
Pipetas Pasteur
Puntas descartables (50 ul)
Aceite de inmersión

4.- Métodos

4.1. *Tamaño Muestral*

Fue obtenido empleando la fórmula de estimación de proporciones basada en la distribución normal para poblaciones infinitas (Daniel, 1996) empleando una prevalencia de 12.54% (Martínez, 1960) con un nivel de confianza de 95% y un error máximo admisible de 5%.

$$n = \frac{z^2 p.q}{e^2}$$

Donde:

n: Tamaño mínimo de muestra.

z: Nivel de confianza del 95% (1.96).

p: Prevalencia referencial (Martínez, 1960).

q: 1 – p.

e: Error máximo admisible (5%)

$$n = 169$$

El número mínimo de muestras a ser estudiadas fue de 169 para cada tipo de crianza.

4.2. Colección de Muestras

Las muestras de sangre fueron colectadas en frascos de vidrio con boca ancha sin anticoagulante durante el beneficio de los porcinos, luego transportados al laboratorio de virología (FMV-UNMSM) donde se obtuvieron los sueros por centrifugación a 800 g x 5 min, conservándose en viales a -20°C hasta su procesamiento.

4.3. Detección de Anticuerpos

Los anticuerpos fueron detectados utilizando ocho serovares de *Leptospira* sp. como antígeno vivo mediante la técnica de aglutinación microscópica (MAT) por ser la prueba de referencia para el diagnóstico de leptospirosis. El procedimiento para MAT es ampliamente conocido y consistió de dos fases:

4.3.1. Prueba Tamiz

Las muestras de suero son diluidas en 1:100 y enfrentadas simultáneamente a los ocho serovares de *Leptospira* sp. los sueros que aglutinan al 50% o más son considerados positivos y pasan a la segunda fase. Para ello se realizó lo siguiente:

- a) En una microplaca de poliestireno se depositó 245 *ul* y 50 *ul* de suero fisiológico en cada uno de los pocillos de la primera y segunda fila respectivamente, luego se añadió 5 *ul* del suero problema en cada pocillo de la primera fila y se mezcló varias veces obteniendo una dilución de 1:50.
- b) De esta dilución de 1:50 se transfirió 50 *ul* a la segunda fila, se mezcló varias veces y se obtuvo una dilución de 1:100. De ésta última dilución se eliminó 50 *ul*.
- c) Posteriormente en la dilución de 1:100 se añadió 50 *ul* del serovar de *Leptospira* sp. (antígeno vivo), la placa fue incubada en estufa a 28°C por dos horas.
- d) Se realizó la lectura en un microscopio de campo oscuro, utilizando un objetivo de 10X. En la interpretación de los resultados se estimó el porcentaje de leptospirosis que aglutinan teniendo como referencia la siguiente escala.

100% de leptospirosis que aglutinan: 4+
75% de leptospirosis que aglutinan: 3+
50% de leptospirosis que aglutinan: 2+
< 25% de leptospirosis que aglutinan: 1+

4.3.2. Titulación de Anticuerpos

Las muestras positivas en la dilución de 1:100 fueron tituladas en diluciones dobles seriadas cuyo rango fue de 1:100 a 1:1600. En cada una de estas diluciones se añadió 50 *ul* del serovar de *Leptospira* sp. (antígeno vivo), la placa fue incubada en estufa a 28°C por dos horas.

La lectura se hizo en un microscopio de campo oscuro repitiendo el procedimiento hecho en el tamizaje.

4.4. Análisis Estadístico

Las frecuencias fueron expresadas en porcentajes y sus respectivos intervalos de confianza (IC) del 95% (Thrusfield, 1990).

$$f = \frac{\text{Número de muestras positivas}}{\text{Número total de muestras}} \times 100$$

$$IC = p \pm \sqrt{z^2 \cdot p \cdot q / n}$$

Donde:

f = Frecuencia calculada.

$z = 1.96$

$q = (1 - p)$

n = Tamaño muestral.

El efecto de las variables sistema de crianza, sexo y edad, sobre la presencia de anticuerpos contra *Leptospira* sp. se evaluó con la prueba de Regresión Logística.

$$g(x) = B_0 + B_1 X_1 + B_2 X_2 + \dots + B_p X_p$$

Asimismo, el grado de asociación estadística entre las variables sistema de crianza, sexo y edad fueron analizados mediante la prueba de Chi cuadrado.

IV. RESULTADOS

El $86.1 \pm 3.7 \%$ (291/338) de las muestras resultaron positivas a anticuerpos contra uno o más serovares de *Leptospira* sp. El $89.9 \pm 4.5 \%$ (152/169) de sueros provenientes de crianza tecnificada y el $82.2 \pm 5.8 \%$ (139/169) de crianza no tecnificada resultaron positivos a anticuerpos de *Leptospira* sp. (Cuadro 2). La frecuencia de serovares detectados en ambos tipos de crianza se muestra en el Cuadro 3, observando al serovar *icterohaemorrhagiae* como el más frecuente en ambos tipos de crianza.

La distribución de sueros positivos a anticuerpos contra los serovares de *Leptospira* sp. detectados en porcinos según sexo y grupo etario en ambos tipos de crianza se muestran en el Cuadro 4. La distribución de los títulos de anticuerpos contra los diferentes serovares de *Leptospira* sp. se presentan en los Cuadros 5 y 6. Asimismo, los resultados de las muestras de sueros reactivos a uno o más serovares de *Leptospira* sp. y sus títulos de anticuerpos se muestran en el Cuadro 7 y 8.

Los resultados para la evaluación de las variables tipo de crianza, sexo y edad, asociados a la presentación de anticuerpos a *Leptospira* sp. en porcinos del valle de Lima, se muestran en el cuadro 9. donde si bien ninguna de ellas represento un factor de riesgo, el tipo de crianza mostro una tendencia a encontrarse asociada a la presentación de anticuerpos ($p= 0.051$).

Cuadro 2. Sueros de porcinos de crianza tecnificada y no tecnificada positivos a anticuerpos contra *Leptospira* sp. (2008)

Tipo de crianza	Nº de sueros evaluados	Nº de sueros positivos	% e IC _(0.95)
Tecnificada	169	152	89.9 ± 4.5
No tecnificada	169	139	82.2 ± 5.8
Total	338	291	86.1 ± 3.7

Cuadro 3. Frecuencia de anticuerpos contra ocho serovares de *Leptospira* sp. en porcinos procedentes de crianza tecnificada y no tecnificada (2008)

Serovares	Crianza tecnificada (n= 169)		Crianza no tecnificada (n= 169)	
	n	%	n	%
<i>canicola</i>	4	2.4	1	0.6
<i>icterohaemorrhagiae</i>	134	79.3	113	66.9
<i>pomona</i>	90	53.3	86	50.9
<i>tarassovi</i>	1	0.6	0	0
<i>ballum</i>	8	4.7	0	0
<i>georgia</i>	54	32.0	27	16.0
<i>bratislava</i>	0	0	0	0
<i>grippothyphosa</i>	0	0	0	0
Total	152	89.9 ± 4.5	139	82.2 ± 5.8

Cuadro 4. Distribución de las muestras positivas a anticuerpos contra *Leptospira* sp. en porcinos procedentes de crianza tecnificada y no tecnificada, según grupo etario (2008)

Grupo etario	Crianza tecnificada (n= 169)			Crianza no tecnificada (n= 169)		
	n	positivos	%	n	positivos	%
Gorrinas	117	105	89.7	62	53	85.5
Gorrinos	46	41	89.1	71	55	77.5
Marranas	4	4	100.0	27	23	85.2
Verracos	2	2	100.0	9	8	88.9
Total	169	152	89.9 ± 4.5	169	139	82.2 ± 5.8

Cuadro 5. Títulos de anticuerpos contra seis serovares de *Leptospira* sp. en sueros de porcinos provenientes de crianza tecnificada (2008)

Serovares	Nº de muestras	Título de anticuerpos*				
		100	200	400	800	1600
<i>pomona</i>	90	62	22	5	1	--
<i>icterohaemorrhagiae</i>	134	80	40	14	--	--
<i>canicola</i>	4	3	--	1	--	--
<i>ballum</i>	8	6	1	1	--	--
<i>georgia</i>	54	39	12	3	--	--
<i>tarassovi</i>	1	1	--	--	--	--

*Inversa de la dilución.

Cuadro 6. Títulos de anticuerpos contra seis serovares de *Leptospira* sp.en sueros de porcinos provenientes de crianza no tecnificada (2008)

Serovares	Nº de muestras	Título de anticuerpos*				
		100	200	400	800	1600
<i>pomona</i>	86	31	31	18	6	--
<i>icterohaemorrhagiae</i>	113	31	43	27	11	1
<i>canicola</i>	1	1	--	--	--	--
<i>georgia</i>	27	17	10	--	--	--

*Inversa de la dilución.

Cuadro 7. Título de anticuerpos contra uno o más serovares de *Leptospira* sp.en cerdos provenientes de crianza tecnificada (2008)

Serovares detectados	seroreactores Nº	%	Títulos de anticuerpos				
			1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600
<i>icterohaemorrhagiae</i>	38	25	23	13	2	----	----
<i>pomona</i>	6	3.9	1	3	1	1	----
<i>georgia</i>	4	2.6	2	1	1	----	----
<i>ballum</i>	1	0.7	1	----	----	----	----
<i>icterohaemorrhagiae</i> + <i>pomona</i>	44	29	28i/ 34p	11i/ 9p	5i/ 1p	----	----
<i>icterohaemorrhagiae</i> + <i>georgia</i>	15	9.8	8i/ 12g	4i/ 2g	3i/ 1g	----	----
<i>icterohaemorrhagiae</i> + <i>ballum</i>	3	2	3i/ 3b	----	----	----	----
<i>icterohaemorrhagiae</i> + <i>tarassovi</i>	1	0.7	1i/ 1t	----	----	----	----
<i>pomona</i> + <i>georgia</i>	5	3.2	1p/ 5g	2p	2p	----	----
<i>ballum</i> + <i>pomona</i>	1	0.7	----	1p	1b	----	----
<i>icterohaemorrhagiae</i> + <i>pomona</i> + <i>georgia</i>	27	17.7	13i/ 22p / 18g	12i/ 5p / 8g	2i/ 1g	----	----
<i>icterohaemorrhagiae</i> + <i>pomona</i> + <i>canicola</i>	2	1.3	1i/ 2p / 2c	----	1i	----	----
<i>icterohaemorrhagiae</i> + <i>pomona</i> + <i>ballum</i>	2	1.3	1p/ 2b	1i/ 1p	1i	----	----
<i>icterohaemorrhagiae</i> + <i>georgia</i> + <i>canicola</i>	1	0.7	1i/ 1g /1c	----	----	----	----
<i>pomona</i> + <i>ballum</i> + <i>icterohaemorrhagiae</i> + <i>georgia</i>	1	0.7	1i/ 1g	1p/ 1b	----	----	----
<i>canicola</i> + <i>georgia</i> + <i>icterohaemorrhagiae</i> + <i>pomona</i>	1	0.7	1i/ 1p	1g	1c	----	----

i= *icterohaemorrhagiae*
p= *pomona*
g= *georgia*
b= *ballum*
t= *tarassovi*
c= *canicola*

Cuadro 8. Título de anticuerpos contra uno o más serovares de *Leptospira* sp.en cerdos provenientes de crianza no tecnificada (2008)

Serovares detectados	seroreactores Nº	%	Títulos de anticuerpos				
			1:100	1:200	1:400	1:800	1:1600
<i>icterohaemorrhagiae</i>	42	30.2	9	23	9	1	----
<i>pomona</i>	18	13	4	8	4	2	----
<i>georgia</i>	4	2.9	3	1	----	----	----
<i>icterohaemorrhagiae</i> + <i>pomona</i>	51	36.7	13i/ 22p	17i/ 16p	13i/ 11p	7i/ 2p	1i
<i>icterohaemorrhagiae</i> + <i>georgia</i>	7	5	3i/ 6g	1g	3i	1i	----
<i>pomona</i> + <i>georgia</i>	4	2.9	1p/ 2g	1p/ 2g	1p	1p	----
<i>icterohaemorrhagiae</i> + <i>pomona</i> + <i>georgia</i>	12	8.6	5i/ 5p / 6g	4i/ 4p / 6g	1i/ 2g	2i/ 1p	----
<i>icterohaemorrhagiae</i> + <i>pomona</i> + <i>canicola</i>	1	0.7	1c	1p	1i	----	----

i= *icterohaemorrhagiae*

p= *pomona*

g= *georgia*

c= *canicola*

Cuadro 9.Resultados de la Regresión Logística para la evaluación de factores asociados a la presentación de *Leptospira* en cerdos al beneficio (2008)

variable	estrato	O.R	Intervalos de confianza
Tipo de crianza	no tecnificado	1	-----
	tecnificado	1.95	0.997 - 3.819
sexo	macho	1	-----
	hembra	1.31	0.688 - 2.499
edad	gorrinos	1	-----
	adultos	0.67	0.238 - 1.861

Los resultados de la Regresión Logística para cada serovar se muestran en el anexo 1. Asimismo, mediante la prueba de Chi- Cuadrado se encontró asociación entre la presencia de anticuerpos y la variable tipo de crianza ($p < 0.05$), pero no entre las variables sexo y edad (Anexo2).

V. DISCUSIÓN

La alta frecuencia de anticuerpos contra *Leptospira* sp., ($86.1 \pm 3.7\%$) detectada en los dos tipos de crianza porcina en la costa, indica que la *Leptospira* es una bacteria común en la población muestreada. La colección de las muestras fue de animales de 4 a 6 meses de edad en su mayoría, durante el beneficio en los mataderos, significando que estos animales estuvieron aparentemente en buen estado de salud. La infección de los porcinos por *Leptospira* sp., puede ser de tipo subclínico, que explicaría, en parte, este resultado y sobre todo si la infección fue debida a uno o más serovares adaptadas a la especie.

Los datos de seropositividad reportados en el mundo en la especie porcina varia dependiendo del tipo de manejo, sistema de crianza, región geográfica, lugar de muestreo (Bharti *et al.*, 2003; OIE, 2006) y también de los serovares de *Leptospira* incluidos en la batería de antígeno en la prueba serológica. Estos factores hacen que los resultados de seroprevalencia de leptospirosis en porcinos y otras especies domésticas reportados en el mundo sean muy diversos. La similar frecuencia de anticuerpos contra la *Leptospira* en los animales de granjas porcinas tecnificada ($89.9 \pm 4.5\%$) y los de crianza no tecnificada (82.2 ± 5.8) indican factores comunes a ambas crianzas como la presencia de roedores o fuentes de agua (Cuadro 2).

Los serovares detectados con mayor frecuencia en crianza tecnificada fueron *icterohaemorrhagiae* (79.3%) *pomona* (53.3%) y *georgia* (32.0%), mientras que en crianza no tecnificada lo fueron *icterohaemorrhagiae* (66.9%) *pomona* (50.9%) y *georgia* (16.0%), (Cuadro 3). Se conoce que el cerdo es un hospedador natural del serovar *pomona* (Chappel *et al.*, 1998) y los roedores del serovar *icterohaemorrhagiae* pero ambos serovares pueden infectar a cualquier especie animal incluyendo al hombre. Otro de los serovares que se asocia al porcino

es *bratislava* pero este serovar así como, *grippothyphosa* no fueron detectados en el presente estudio. La frecuencia de anticuerpos contra los serovares arriba indicados es superior a las reportadas en algunos estudios en porcinos (Chappel *et al.*, 1998; Ochoa *et al.*, 2000; Cisneros *et al.*, 2002). Se menciona que en crías porcinas con problemas reproductivos usualmente la prevalencia se incrementa, pero este concepto no sería válido para la población de porcinos muestreados ya que más del 90% fueron gorrinas y gorrinos destinados al engorde.

El escaso número de muestras de marranas y verracos sobre todo provenientes de granjas tecnificada (Cuadro 4) no permite inferir sobre la problemática reproductiva en el grupo de reproductoras de la granja pero la alta frecuencia de anticuerpos detectados en los gorrinos muestreados indica el carácter endémico de la bacteria en el grupo de cría. Aunque no se obtuvieron informaciones de la situación zoonositaria de las granjas o criaderos de procedencia de los animales muestreados se sabe que los problemas reproductivos caracterizados por infertilidad, abortos, nacimiento de lechones débiles, entre otros (Ochoa *et al.*, 2000) son frecuentes en la cría porcina y muchas veces sus causas no son identificadas.

Los títulos de anticuerpos de mayor frecuencia detectados en los animales de ambos tipos de cría estuvieron en un rango de 1: 100 a 1: 400 y en menor frecuencia entre 1:800 a 1:1600 detectado sobre todo en animales de cría no tecnificada (Cuadros 5 y 6). Existen escasas informaciones sobre la cinética de anticuerpos leptospirales incluso en porcinos vacunados. En un reciente estudio se evaluó dos tipos de bacterinas conteniendo cinco serovares de *Leptospira* en marranas concluyéndose que los títulos de anticuerpos neutralizantes presentes en las marranas fueron bajos y la inmunidad pasiva fue de corta duración (Soto *et al.*, 2007). En este sentido, los títulos detectados en el presente estudio sugiere que los animales tuvieron un reciente desafío sobre todo el animal que presentó un título de 1:1600 que sin duda se trató de una infección activa ya que los animales recientemente infectados pueden desarrollar en uno o dos semanas posterior títulos de anticuerpos por encima de 1:800 (The Pig Site, 2009).

Los anticuerpos detectados en el presente estudio fueron inducidos por la bacteria de campo y no por vacuna, ya que la vacunación son utilizadas en el plantel de reproductores pero no en los animales de cría. El 43.3% (63/139) de los animales de cría no tecnificada presentaron títulos entre 1:400 a 1:800 frente al 16.4% (25/152) de animales con los mismos títulos provenientes de cría tecnificada. Este resultado indica que la infección por *Leptospira* es más frecuente en animales de cría no tecnificada posiblemente debido a las deficientes condiciones sanitarias. Sin embargo, la alta frecuencia del serovar *icterohaemorrhagiae* en ambos tipos de cría indica la existencia de roedores en ambos sistemas.

La frecuencia de los serovares *pomona*, *icterohaemorrhagiae* e incluso *canicola* han sido detectados en porcinos (Ochoa et al., 2000; Cisneros et al., 2002), las infecciones de porcinos con estos serovares son predecibles ya que *pomona* es más frecuente en esta especie, en todo establecimiento ganadero los roedores hospederos del serovar *icterohaemorrhagiae* están presentes y cuando las medidas de bioseguridad no existen o no son estrictas los canes hospederos del serovar *canicola*, pueden ingresar o estar cerca de los establecimientos. La detección de anticuerpos contra el serovar *georgia* en porcinos es intrigante pues no es usual su detección en porcinos. Las bacterinas utilizadas contienen cinco serovares pero no incluye a *georgia* por lo que se descarte que los anticuerpos puedan ser de origen vacunal. Usualmente este serovar se detecta en perros, búfalos de agua, bovinos, caballos y humanos (Céspedes et al., 2004; Adesiyun et al., 2009). Una posibilidad es que se trate de una reacción cruzada con otro serovar no incluido en el presente estudio, y es que el serovar *georgia* pertenece al serogrupo *mini*, el cual es antigénicamente relacionado con el serogrupo *sejroe* (Clerc et al., 2002).

Muchos de los animales de ambos tipos de crianza, tuvieron anticuerpos a más de un serovar siendo la combinación *icterohaemorrhagiae* y *pomona* los más predominantes (Cuadros 7 y 8) corroborando la alta frecuencia de estos serovares en la población muestreada. Los animales pueden infectarse con más de un serovar debido a que los anticuerpos serovar específicos. Sin embargo, los títulos bajos de anticuerpos pueden reaccionar en forma cruzada con miembros de otro serogrupo pero no en títulos altos. Los títulos de anticuerpos de 1:200 o más indican infecciones por los respectivos serovares. En este sentido, estos animales beneficiados en mataderos sin medidas de protección por parte de los operarios, podría significar un importante factor de riesgo para la salud pública.

VI. CONCLUSIONES

- Anticuerpos contra *Leptospira* sp., fueron detectados en porcinos de crianza tecnificada y no tecnificada con una frecuencia similar en ambos tipos de crianza.
- Los serovares de mayor frecuencia detectados fueron: *icterohaemorrhagiae*, *pomona* y *georgia*, en ambos tipos de crianza.
- Mediante la prueba de Regresión Logística la variable tipo de crianza represento una tendencia a encontrarse asociada a la presentación de anticuerpos ($p= 0.051$), mientras que las variables sexo y edad no representaron ninguna probabilidad de influir en la presentación de anticuerpos a *Leptospira* sp.

VII. LITERATURA CITADA

- 1.-**Acha P, Szyfres B. 2003.** Leptospirosis. En: Acha P, Szyfres B, eds. Zoonosis y enfermedades transmisibles comunes al hombre y a los animales. 3ª ed. Vol 1. Washington: Organización Panamericana de la Salud. p 175-186.
- 2.-**Adesiyun AA, Hull-Jackson C, Clarke N, Whittington C, Seepersadsingh N. 2009.** Leptospirosis in water buffalo (*Bubalus bibalis*) in Trinidad. Veterinarski Arhiv. 79 (1): 77-86.
- 3.-**Agudelo P, Restrepo BN, Arboleda M. 2007.** Situación de la leptospirosis en el Urabá antioqueño colombiano: estudio seroepidemiológico y factores de riesgo en población general urbana. Cad Saúde Pública Rio de Janeiro. 23(9): 2094-2102.
- 4.-**Almeida L, Da Silva LF, Soares C. 1999.** Fatores de risco associados à presença de anticorpos antileptospira em trabalhadores do serviço de saneamento ambiental. Ciência Rural. 29(3): 511-516.
- 5.-**Almenteros C, Arrieta G, Máttar S, Barguil A, Tamayo L, Padilla T, Bedoya Z, Mendoza S, Estereta F, Díaz N, Estrada C, Medina A, Rodríguez A, De la Ossa M, Pérez A, Ríos R. 2004.** Seroprevalencia de leptospirosis porcina en el Departamento de Córdoba. Rev Col Cienc Pec. 17(2): 141-147.
- 6.-**Alonso C, García FJ, Ortega LM. 2001.** Epidemiología, diagnóstico y control de la leptospirosis bovina (Revisión). Prod Sanid Anim. 16(2): 205-225.

7. **Bal AE, Gravekamp C, Hartskeerl RA, De Meza-Brewster J, Horver H, Terpstra WJ. 1994.** Detection of leptospires in urine by PCR for early diagnosis of leptospirosis. *J Clin Microbiol.* 32(8): 1894-1898.
8. **Bharti AR, Nally JE, Ricaldi JN, Matthias MA, Diaz MM, Lovett MA, Levett PN, Gillman RH, Willig MR, Gotuzzo E, Vinetz JM. 2003.** Leptospirosis: a zoonotic disease of global importance. *Lancet Infect Dis.* 3(12): 757-771.
9. **Bolin CA, Cassells JA, Hill HT, Frantz JC, Nielsen JN. 1991.** Reproductive failure associated with *Leptospira interrogans* serovar *bratislava* infection of swine. *J Vet Diagn Invest.* 3: 152-154.
10. **Bolin CA, Cassells JA. 1992.** Isolation of *Leptospira Interrogans* serovars *bratislava* and *hardjo* from swine at slaughter. *J Vet Diagn Invest.* 4: 87-89.
11. **Bolin CA, Alt DP. 1998.** Clinical signs, diagnosis, and prevention of bovine leptospirosis. *The Bovine Practitioner* 33 (1): 50-55.
12. **Boqvist S. 2002.** *Leptospira* infection among pigs in southern Vietnam. Aspects on epidemiology, clinical affection and bacteriology. Doctoral thesis of Veterinary Medicine. Upsala: Swedish University of Agricultural Sciences. 42 p.
13. **Boqvist S. 2003.** Leptospirosis and Reproduction in Livestock. En symposium: "Farm animal reproduction: Reducing infecti diseases". Latvia: "Farm animal reproduction: Reducing infectious disease and conserving local genetic resources".
14. **Boqvist S, Montgomery JM, Hurst M, Ho Thi VT, Olsson Engvall E, Gunnarsson A, Magnusson U. 2003.** *Leptospira* in slaughtered fattening pigs in southern Vietnam: presence of the bacteria in the kidneys and association with morphological findings. *Veterinary Microbiology* 93: 361-368.
15. **Borrero R, Gonzáles A, Del puerto C, Batista N, Váldez Y. 2006.** Conservación de cepas vacunales de *Leptospira* a -70°C. *Rev Cubana Med Trop.* 58(1): 50-55.
16. **Bulach DM, Kalambaheti T, De la peña-Moctezuma A, Adler B. 2000.** Lipopolysaccharide biosynthesis in *Leptospira*. *J Mol Micro Biol Biotechnol.* 2 (4): 375-380.

- 17.-Cachata S, Suárez F, Huanca W, Rivera H. 2008. Prevalencia de anticuerpos contra *Leptospira sp.* en dos predios de Puno. Rev Inv Vet Perú 19(2): 187-191.
- 18.-Censo Nacional Agropecuario. 1994. Instituto Nacional de Estadística e Informática. Lima. INEI.54p.
- 19.-Céspedes M, Fernández R, Rimarachín R, Taipe H, Cenepo J, Mori M, Torres I, Castillo C, Balda L, Tapia R, Gonzáles D, Glenny M. 2004. Leptospirosis: una enfermedad zoonótica hiperendémica en la provincia de Coronel Portillo. Ucayali, Perú. Rev peru med exp salud publica 21(2): 62-70.
- 20.-Céspedes M. 2005. Leptospirosis: enfermedad zoonótica reemergente. Rev Peru Med Exp Salud pública 22 (4): 290-307.
- 21.-Céspedes M, Balda L, Gonzáles D, Tapia R. 2006. Situación de la leptospirosis en el Perú 1994-2004. Rev peru med exp salud pública 23(1): 55-66.
- 22.-Céspedes M, Chun M, Cano E, Huaranca I, Atoche H, Ortiz H, Valentín M, Balda L, Huamán T. 2007. Prevalencia de anticuerpos contra *Leptospira* en personas asintomáticas y en perros de Chancay, Lima 2001. Rev peru med exp salud pública 24(4): 343-349.
23. -Chappel RJ, Prime RW, Millar BD, Jones RT, Cutler RS, Adler B. 1998. Prevalence and geographic origin of pigs with serological evidence of infection with *Leptospira interrogans* serovar *pomona* slaughtered in abattoirs in Victoria, Australia. Veterinary Microbiology 62(3):235-242.
- 24.-Chaudhary RK, Fish NA, Barnum DA. 1966. Protección de piglets from inmunized sows via colostrum against experimental *L. pomona* infection. Can. Vet. Jour.7 (6): 121-127.
- 25.-Cisneros MA, Moles LP, Gavaldon D, Rojas N, Torres JI. 2002. Serología diagnóstica de leptospirosis porcina en México 1995-2000. Rev Cubana Med Trop. 54(1): 28-31.
- 26.-Clerc K, Aidorevich L, Tkacheek O, Marquez N. 2000. Aislamiento de *Leptospira interrogans* en vacas mestizas holstein en el Municipio Girardot del Estado Aragua Brasil. Rev Fac Cien Vet. 43 (2): 95-105.

- 27.-**Daniel W, 1996.** Bioestadística. Base para el análisis de las ciencias de la salud. 5ª ed. México: Limusa. p 205-207.
- 28.-**Delbem AC, Freire RL, Da silva CA, Müller EE, Dias RA, Neto JS, Freitas JC. 2004.** Fatores de risco associados à soropositividade para leptospirose em matrizes suínas. Ciencia Rural 34 (3): 847-852.
- 29.-**Delgado A. 1967.** Leptospirosis en monos (*Saimiri sciureus*) de la Amazonia peruana. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Univ.Nac. Mayor de San Marcos.16 p.
- 30.-**[DGIA] Dirección General de Información Agraria. 2005.** Producción pecuaria e industria avícola. Lima: Ministerio de Agricultura. 60 p.
- 31.-**Donahue JM, Smith BJ, Donahoe JK, Rigsby CL, Tramontin RR, Poonacha KB, Wilson MA. 1992.** Prevalence and serovars of leptospira involved in equine abortions in central Kentucky during the 1990 foaling season. J Vet Diagn Invest. 4: 279-284.
- 32.-**Fajardo EM, Ortiz B, Chávez A, Gáinza N, Izquierdo L, Hernández Y, Labrador I, Álvarez E. 1998.** Normalización de la dosis letal 50% de cepas de *Leptospira interrogans* utilizadas en el control de la vacuna antileptospirósica cubana para uso humano. Rev Cubana Med Trop. 50 (1): 22-26.
- 33.-**Girio RJ, Mathias LA, Castania VA, Carvalho AC. 1987.** Ocorrência de surtos de leptospirose suína e humana em três propriedades do município de Viradouro – SP. Ciencia Veterinaria 1(2): 52-53.
- 34.-**Haake DA, Dundoo M, Cader R, Kubac BM, Hartskeerl RA, Sejvar JJ, Ashford DA. 2002.** Leptospirosis, water sports, and chemoprophylaxis. CID. 34:40-43.
- 35.-**Haji MR, Ghorbanpour M, Abdollahpour G. 2006.** Seroprevalence of leptospiral infection in buffalo (*Bubalus bubalis*). Bull Vet Inst Pulawy 50: 341-344.
- 36.-**Herrer A, Liceras J, Meneses O. 1960.** Nota preliminar sobre la leptospirosis en los cerdos del Perú. Rev med exp. 13: 119-123.

- 37.-**Herrera JP, Vasconcellos SA, Morais ZM, Ferreira F, Sakamoto SM, Ferreira JS, Pinheiro SR. 2000.** Seropositividade para leptospirose em alpacas criados no Altiplano peruano. Puno, Perú. Análise de associação com o índice pluviométrico. Arq Inst Biol, São Paulo 67(2): 171-176.
- 38.-**Hodgin EC, Miller DA, Lozano F. 1989.** *Leptospira* abortion in horses. J Vet Diagn Invest. 1: 283-287.
- 39.-**Horsch F.1981.** Leptospirosis. Enfermedades infecciosas de los animales domésticos. Vol II, 1ª ed. Zaragoza: Acribia. p 58.
- 40.-**Jaramillo K, Torres R, Sal y Rosas I, Lucero J, Gleny M.2002.** Estudio serológico de IgG contra leptospirosis en trabajadores del camal municipal de Huaraz-Ancash.2001. Rev Peru Med Exp Salud Pública 19: s20-s21.
- 41.-**Kalinowski J. 2004.** Situación de la porcicultura en el Perú. Aves & Cerdos 4: 29-33.
- 42.-**Kingscote BF. 1985.** Leptospirosis in livestock. Can Vet J. 26: 235-236.
- 43.-**Kingscote BF. 1986.** Leptospirosis outbreak in a piggery in southern Alberta. Can Vet J. 27: 188-190.
- 44.-**Laguna V. 2000.** Leptospirosis, módulos técnicos, serie de documentos monográficos N° 2. OGE-INS. Perú. 56 p.
- 45.-**Latre V, Vela A. 2002.** Espiroquetas. En: Vadillo S, Píriz S, Mateos EM, eds Manual de Microbiología veterinaria. Madrid: Mc Graw- Hill p 247-252.
- 46.-**Levett PN. 2001.** Leptospirosis. Clin Microbiol Rev. 14 (2): 296-326.
- 47.-**Liceras J, Hidalgo R. 1970.** Leptospirosis en el ganado y matarifes de Tumbes, Perú. Bol Sanit Panam. 68 (4): 297-306.
- 48.- **Liceras J, Sulzer KR. 1984.** Six new leptospiral serovars isolated from wild animals in Peru. J Clin Microbiol. 19(6): 944-945.

- 49.-**Liceras J, Valdivia P, Higuchi O. 1989.** Leptospirosis en el Perú. En: Anales del seminario nacional de zoonosis y enfermedades de transmisión alimentaria. Lima: Programa nacional de control de zoonosis.
- 50.-**Lilenbaum W, Morais ZM, Gonçalves A, De Souza GO, Richtzenhain L, Vasconcellos SA. 2007.** First isolation of leptospires from dairy goats in Brazil. Braz J Microbiol. 38: 507-510.
- 51.-**Llorente P, Leoni L, Martínez M. 2002.** Leptospirosis en camélidos sudamericanos. Estudio de prevalencia serológica en distintas regiones de la Argentina. Arch Med Vet. 34(1): 59-68.
- 52.-**Lluncor E. 1960.** Contribución al estudio de la leptospirosis canina en la ciudad de Lima. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Univ. Nac. Mayor de San Marcos. 22 p.
- 53.-**Macedo S. 2005.** Estudio ultraestructural de *Leptospira biflexa* serovar Andamana cepa JNS al microscopio electrónico de transmisión y barrido. Rev Peru Med Exp Salud Pública 22(4): 281-289.
- 54.-**Martínez AJ, 1960.** Encuesta de leptospirosis en cerdos sacrificados en el frigorífico nacional del Callao. Tesis de Médico Veterinario. Lima: Univ. Nac. Mayor de San Marcos. 21 p.
- 55.-**Mason RJ, Fleming PJ, Smythe LD, Dohnt MF, Norris MA, Symonds ML. 1998.** *Leptospira interrogans* antibodies in feral pigs from New South Wales. Journal of Wildlife Diseases 34(4): 738-743.
- 56.-**Michel V, Branger C, Andre-Fontaine G. 2002.** Epidemiology of leptospirosis. Rev Cubana Med Trop. 54(1): 7-10.
- 57.-**Milas Z, Turk N, Janicki Z, Slavica A, Starešina V, Barbić L, Logkic M, Modrić Z. 2006.** Leptospiral antibodies in red foxes (*Vulpes vulpes*) in northwest Croatia. Vet arhiv. 76(1): 51-57.
- 58.-**Miller DA, Wilson MA, Owen WJ, Beran GW. 1990.** Porcine leptospirosis in Iowa. J Vet Diagn Invest. 2:171-175.

- 59.-**Mitchell D, Robertson A, Corner AH, Boulanger P. 1966.** Some observations on the diagnosis and epidemiology of leptospirosis in swine. *Can J Comp Med Vet Sci.* 30: 211-217.
- 60.-**Naito M, Sakoda Y, Kamikawa T, Nitta Y, Hirose K, Sakashita M, Kurokawa S, Kida H. 2007.** Serological evidence of leptospiral infection in pig populations in different districts in Japan. *Microbiol Immunol.* 51(6): 593-599.
- 61.-**Niwetpathomwat A, Luengyosluechakul S, Geawduanglek S. 2006.** A serological investigation of leptospirosis in sows from central Thailand. *Southeast Asian J Trop Med Public Health* 37(4): 716-719.
- 62.- **Ochoa JE, Sánchez A, Ruiz I. 2000.** Epidemiología de la leptospirosis en una zona andina de producción pecuaria. *Rev Panam Salud Publica* 7(5): 325-331.
- 63.- **Oie S, Koshiro A, Konishi H, Yoshii Z. 1986.** *In vitro* evaluation of combined usage of fosfomicin and 5- fluorouracil for selective isolation of *Leptospira* species. *J Clin Microbiol.* 23 (6): 1084 -1087.
- 64.- **Organismo Mundial de Salud Animal (OIE). 2006.** Manual de la OIE sobre animales terrestres: Manual de pruebas de diagnóstico y de las vacunas para los animales terrestres. EE.UU. p 343- 355.
- 65.-**Perret C, Abarca K, Dabanch J, Solari V, García P, Carrasco S, Olivares R, Avalos P. 2005.** Prevalencia y presencia de factores de riesgo de leptospirosis en una población de riesgo de la región metropolitana. *Rev Med Chile* 133: 426- 431.
- 66.-**Quinn PJ, Markey BK, Carter ME, Donnelly WJ, Leonard FC. 2002.** Microbiología y enfermedades infecciosas veterinarias. Zaragoza: Acribia S.A. p 213-217.
- 67.-**Radostits OM, Gay CC, Blood DC, Hinchcliff KW. 2002.** Medicina Veterinaria. Tratado de las enfermedades del ganado ovino, porcino, caprino y equino. Vol I, 9ª ed. Madrid: Mc Graw-Hill. p 1150-1168.
- 68.-**Ritchie AE, Ellinghausen HC. 1965.** Electron microscopy of leptospiras .I. Anatomical features of *Leptospira pomona*. *J Bacteriol.* 89(1): 223-232.

- 69.-**Rivera A, De la Peña A, Roa M, Ordoñez ML. 1999.** Seroprevalencia de leptospirosis en perros callejeros del norte de la ciudad de México. *Vet Mex.* 30 (1): 105-107.
- 70.-**Rodríguez AL, Ferro BE, Varona MX, Santafé M. 2004.** Evidencia de exposición a *Leptospira* en perros callejeros de Cali. *Biomédica* 24: 291-295.
- 71.-**Russell KL, Montiel MA, Watts DM, Lagos-Figueroa RC, Chauca G, Ore M, Gonzales JE, Moron C, Tesh R, Vinetz JM. 2003.** An outbreak of leptospirosis among peruvian military recruits. *Am J Trop Med Hyg.* 69(1): 53-57.
- 72.- **Sambasiva RR, Naveen G, Bhalla P, Agarwal SK. 2003.** Leptospirosis in Indian and rest of the world. *Braz J Infect Dis.* 7 (3): 178-193.
- 73.- **Schmidt V, Arosi A, Dos santos A. 2002.** Levantamiento sorológico da leptospirose em caprinos leiteiros no Rio Grande do Sul, Brasil. *Ciência Rural* 32 (4): 609-612.
- 74.- **Shimabukuro FH, Domingues PF, Langoni H, Silva AV, Pinheiro JP, Padovani CR. 2003.** Pesquisa de suínos portadores renais de leptospirosis pelo isolamento microbiano e reação em cadeia pela polimerasa em amostras de rins de animais sorologicamente positivos e negativos para la leptospirose. *Braz J Vet Res anim Sci.* 40(4): 243-253.
- 75.-**Soto FRM, Vasconcellos SA, Pinheiro SR, Bernasi F, Camargo SR. 2007.** Lestospirose suína (Revisión). *Arq Inst Biol.* 74(4): 379-395.
- 76.-**The Pig Site. Leptospirosis. [Internet], [17 octubre 2009].** Disponible en: [http://www.thepigsite.com/pighealth/article\(451\)/leptospirosis](http://www.thepigsite.com/pighealth/article(451)/leptospirosis).
- 77.-**Thiermann AB. 1981.** The norway rat as a selective chronic carrier of *Leptospira icterohaemorrhagiae*. *Journal of Wildlife Diseases* 17(1): 39-43.
- 78.- **Thrusfield M. 1990.** Epidemiologia Veterinaria. Zaragoza: Acribia. 352 p.
- 79.-**Triampo W, Doungchawee G, Triampo D, Wong-Ekkabut J, Tang I. 2004.** Effects of static magnetic field on growth of leptospire, *Leptospira interrogans* serovar *canicola*: Immunoreactivity and Cell Division. *J Biosci Bioeng.* 98(3): 182-186.

- 80.-Trueba G, Zapata S, Madrid K, Peñafiel N. 2002. Adaptación de *Leptospira interrogans* (sensu stricto) al agua dulce. Rev Cubana Med Trop. 54(1):11-14.
- 81.-Trueba G, Zapata S, Madrid K, Cullen P, Haake D. 2004. Cell aggregation: A mechanism of pathogenic *Leptospira* to survive in fresh water. Int Microbiol. 7: 35-40.
- 82.-Turner LH. 1969. Leptospirosis. Brit med J. 1: 231-235.
- 83.-Turner LH. 1973. Leptospirosis. Brit Med J. 1: 537-540.
- 84.-Valdivia S, Terán M, Windsor RS. 1991. *Leptospira interrogans* serovar *canicola*: a causal agent of sow abortions in Arequipa, Perú. Trop Anim Hlth prod. 23: 233-240.
- 85.-Valli VEO. 1991. El sistema hematopoyético. En: Jubb KVF, Kennedy PC, Palmer N, eds. Patología de los animales domésticos. 3ª ed. Vol III. Montevideo: Hemisferio Sur. p 159-166.
- 86.-Vanasco NB, Sequeira G, Dalla-Fontana ML, Fusco S, Sequeira MD, Enría D. 2000. Descripción de un brote de leptospirosis en la ciudad de Santa Fé, Argentina, Marzo-Abril de 1998. Pan Am J Public Health 7(1): 35-40.
- 87.-Van Til LD, Dohoo IR, 1991. A serological survey of leptospirosis in Prince Edwards island swine herds and its association with infertility. Can J Vet Res. 55: 352-355.
- 88.-Viyajachari P, Sugunan AP, Shriram AN. 2008. Leptospirosis: an emerging global public health problem. J Biosci. 33(4): 557-569.
- 89.-Yang CW, Wu MS, Pan MJ, Hsieh WJ, Vandewalle A, Huang CC. 2002. The *Leptospira* outer membrane protein LipL32 induces tubulointerstitial nephritis- mediated gene expression in mouse proximal tubule cells. J Am Soc Nephrol. 13: 2037-2045.
- 90.-Zunino E, Pizarro R. 2007. Leptospirosis. Puesta al día. Rev Chil Infect. 24 (3): 220-22.

VIII. APÉNDICE

Cuadro A1. Características clínicas asociadas con las infecciones por leptospirosis en los animales domésticos

Serovares de <i>Leptospira interrogans</i> que producen leptospirosis en los animales domésticos		
Serovar	Hospedadores	Características clínicas
<i>Leptospira borgpetersenii</i> serovar <i>hardjo</i> <i>L. Interrogans</i> serovar <i>hardjo</i>	Bovinos, ovinos	Abortos, nacidos muertos, agalaxia
	Humanos	Enfermedad similar a la gripe; ocasionalmente, afección de hígado o riñones
<i>L. borgpetersenii</i> serovar <i>tarassovi</i>	Cerdos	Fallo de la reproducción, abortos, nacidos muertos
<i>L. Interrogans</i> serovar <i>bratislava</i>	Cerdos, caballos, perros	Fallo de la reproducción, abortos, nacidos muertos
<i>L. Interrogans</i> serovar <i>canicola</i>	Perros	Nefritis aguda en cachorros. Enfermedad renal crónica en adultos
	Cerdos	Abortos y nacidos muertos. Enfermedad renal en lechones
<i>L. Interrogans</i> serovar <i>grippityphosa</i>	Bovinos, cerdos, perros	Septicemia en animales jóvenes; abortos
<i>L. Interrogans</i> serovar <i>icterohaemorrhagiae</i>	Bovinos, ovinos, cerdos	Septicemia aguda en terneros, lechones y corderos; abortos
	Perros, humanos	Enfermedad hemorrágica sobreaguda, hepatitis aguda con ictericia
<i>L. Interrogans</i> serovar <i>pomona</i>	Bovinos, ovinos	Enfermedad hemolítica aguda en terneros y corderos; abortos
	Cerdos	Fallo en la reproducción; septicemia en lechones
	Caballos	Abortos, oftalmia periódica

Fuente: Quinn PJ, Markey BK, Carter ME, Donnelly WJ, Leonard FC. 2002. Microbiología y enfermedades infecciosas veterinarias. 1ª ed. Zaragoza: Acribia S.A. p 215.

Anexo 1. Resultados de la Regresión Logística en las que se evaluaron las variables tipo de crianza, sexo y edad, asociados a anticuerpos a *Leptospira* sp.

Regresión logística: Resultados *canicola*

Variables in the Equation

		B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95.0% C.I. for EXP(B)	
								Lower	Upper
Step 1	CRianza(1)	1.979	1.203	2.708	1	.100	7.237	.685	76.458
	SEXO(1)	-1.266	.933	1.841	1	.175	.282	.045	1.755
	EDAD(1)	-1.493	1.229	1.475	1	.225	.225	.020	2.500
	Constant	-3.586	1.260	8.101	1	.004	.028		

a. Variable(s) entered on step 1: CRIANZA, SEXO, EDAD.

Regresión logística: *icteroemorrhagiae*

Variables in the Equation

		B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95.0% C.I. for EXP(B)	
								Lower	Upper
Step 1	CRianza(1)	.681	.266	6.547	1	.011	1.976	1.173	3.330
	SEXO(1)	-.050	.263	.037	1	.848	.951	.568	1.591
	EDAD(1)	-.178	.386	.213	1	.645	.837	.393	1.782
	Constant	.869	.393	4.896	1	.027	2.385		

a. Variable(s) entered on step 1: CRIANZA, SEXO, EDAD.

Regresión logística: *pomona*

Variables in the Equation

		B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95.0% C.I. for EXP(B)	
								Lower	Upper
Step 1	CRianza(1)	.235	.234	1.006	1	.316	1.265	.799	2.000
	SEXO(1)	-.012	.233	.002	1	.960	.988	.626	1.562
	EDAD(1)	-.792	.365	4.717	1	.030	.453	.222	.926
	Constant	.669	.368	3.305	1	.069	1.953		

a. Variable(s) entered on step 1: CRIANZA, SEXO, EDAD.

Regresión logística: *grippotyphosa* y *bratislava* todos negativos

Regresión logística: *tarassovi*

Variables in the Equation

		B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95.0% C.I. for EXP(B)	
								Lower	Upper
Step 1 ^a	CRianza(1)	16.269	2715.330	.000	1	.995	1.2E+07	.000	.
	SEXO(1)	-16.632	2536.294	.000	1	.995	.000	.000	.
	EDAD(1)	13.675	4422.579	.000	1	.998	869298.4	.000	.
	Constant	-33.751	5189.626	.000	1	.995	.000		

a. Variable(s) entered on step 1: CRIANZA, SEXO, EDAD.

Regresión logística: *ballum*

Variables in the Equation

		B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95.0% C.I. for EXP(B)	
								Lower	Upper
Step 1 ^a	CRianza(1)	17.356	2753.118	.000	1	.995	3.4E+07	.000	.
	SEXO(1)	17.330	3153.885	.000	1	.996	3.4E+07	.000	.
	EDAD(1)	15.808	4999.152	.000	1	.997	7336960	.000	.
	Constant	-53.106	6520.596	.000	1	.994	.000		

a. Variable(s) entered on step 1: CRIANZA, SEXO, EDAD.

Regresión logística: *georgia*

Variables in the Equation

		B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95.0% C.I. for EXP(B)	
								Lower	Upper
Step 1 ^a	CRianza(1)	1.150	.299	14.758	1	.000	3.157	1.756	5.676
	SEXO(1)	-.155	.280	.306	1	.580	.856	.495	1.482
	EDAD(1)	-.957	.405	5.590	1	.018	.384	.174	.849
	Constant	-.876	.395	4.926	1	.026	.416		

a. Variable(s) entered on step 1: CRIANZA, SEXO, EDAD.

- Resultados generales de la Regresión Logística

Variables in the Equation

		B	S.E.	Wald	df	Sig.	Exp(B)	95.0% C.I. for EXP(B)	
								Lower	Upper
Step 1 ^a	CRianza(1)	.669	.343	3.810	1	.051	1.951	.997	3.819
	SEXO(1)	.271	.329	.678	1	.410	1.311	.688	2.499
	EDAD(1)	-.408	.525	.603	1	.437	.665	.238	1.861
	Constant	1.729	.529	10.705	1	.001	5.637		

a. Variable(s) entered on step 1: CRIANZA, SEXO, EDAD.

Anexo 2. Tablas de contingencia y resultados obtenidos mediante la prueba de Chi-Cuadrado para la evaluación de asociación entre la presencia de anticuerpos y las variables tipo de crianza, sexo y edad.

Tipo de crianza

Crosstab

			Resultado		Total
			0	1	
Crianza.	0	Count	17	152	169
		% within Crianza.	10.1%	89.9%	100.0%
	1	Count	30	139	169
		% within Crianza.	17.8%	82.2%	100.0%
Total		Count	47	291	338
		% within Crianza.	13.9%	86.1%	100.0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	4.177 ^b	1	.041	.058	.029
Continuity Correction ^a	3.559	1	.059		
Likelihood Ratio	4.224	1	.040		
Fisher's Exact Test					
Linear-by-Linear Association	4.164	1	.041		
N of Valid Cases	338				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 23.50.

Sexo

Crosstab

			Resultado		Total
			0	1	
Sexo.	0	Count	25	185	210
		% within Sexo.	11.9%	88.1%	100.0%
	1	Count	22	106	128
		% within Sexo.	17.2%	82.8%	100.0%
Total		Count	47	291	338
		% within Sexo.	13.9%	86.1%	100.0%

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	1.854 ^b	1	.173	.196	.116
Continuity Correction ^a	1.439	1	.230		
Likelihood Ratio	1.817	1	.178		
Fisher's Exact Test					
Linear-by-Linear Association	1.848	1	.174		
N of Valid Cases	338				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 17.80.

Edad

Crosstab

			Resultado		Total
			0	1	
Edad.	0	Count	42	254	296
		% within Edad.	14.2%	85.8%	100.0%
	1	Count	5	37	42
		% within Edad.	11.9%	88.1%	100.0%
Total	Count	47	291	338	
	% within Edad.	13.9%	86.1%	100.0%	

Chi-Square Tests

	Value	df	Asymp. Sig. (2-sided)	Exact Sig. (2-sided)	Exact Sig. (1-sided)
Pearson Chi-Square	.160 ^b	1	.689	.815	.453
Continuity Correction ^a	.026	1	.871		
Likelihood Ratio	.166	1	.683		
Fisher's Exact Test					
Linear-by-Linear Association	.160	1	.689		
N of Valid Cases	338				

a. Computed only for a 2x2 table

b. 0 cells (.0%) have expected count less than 5. The minimum expected count is 5.84.